

ОТЕЧЕСТВЕННАЯ СЕЛЕКЦИЯ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

Научная статья
УДК 631.52: 634.11: 575.22
DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-135-145



Маркер-опосредованный отбор в создании селекционных образцов и комплексных доноров яблони с устойчивостью к парше и повышенным потенциалом лежкоспособности плодов

И. И. Супрун, Е. А. Егоров, А. И. Насонов, Е. В. Лободина, С. В. Токмаков, И. В. Степанов

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

Автор, ответственный за переписку: Иван Иванович Супрун, supruni@mail.ru

Актуальность. Возделывание сортов яблони, обладающих устойчивостью к парше и высоким уровнем лежкости плодов при хранении, повышает экономическую эффективность и экологичность садоводства. Очевидно, что создание таких сортов является актуальной задачей.

Материал и методы. Материалом для исследований послужили 646 гибридных растений, полученных в шести гибридных комбинациях: Ренет Симиренко/Моди, Ренет Симиренко/Смеральда, Ренет Симиренко/Ренуар, Ренет Симиренко/Фуджион, Ренуар/Гренни Смит и Моди/Гренни Смит. Фенотипическую оценку устойчивости к парше проводили на естественном инфекционном фоне в течение двух лет с использованием количественной шкалы. Для идентификации гена *Rvi6* проводили ПЦР-анализ с праймерной парой VfC1+VfC2, для гена *Md-ACS1* использовали известный SCAR-ДНК-маркер. Критерий хи-квадрат использовали для статистической оценки достоверности данных.

Результаты. На основании ДНК-маркерного анализа идентифицировали 328 растений, несущих доминантный аллель гена *Rvi6*. Молекулярно-генетический анализ по гену *Md-ACS1* позволил выявить 190, 322 и 126 растений, несущих аллельные варианты *Md-ACS1-2/2*, *Md-ACS1-1/2* и *Md-ACS1-1/1* соответственно. Среди образцов с доминантным аллелем гена устойчивости к парше *Rvi6* идентифицировали 92 образца, обладающих селекционно приоритетным аллелем в гомозиготе (*Md-ACS1-2/2*), и 143 образца, являющихся гетерозиготными (*Md-ACS1-1/2*), которые также представляют ценность для селекции.

Заключение. В результате выполнения работы был получен широкий перечень образцов яблони, несущих селекционно ценные аллели гена устойчивости к парше *Rvi6* и гена *Md-ACS1*. Наличие гибридных форм, несущих приоритетные аллели одновременно двух генов хозяйственно важных признаков, позволит усилить селекционную работу по созданию устойчивых к парше сортов яблони с повышенной лежкоспособностью плодов. Образцы с наилучшими сочетаниями аллелей целевых генов, наряду с использованием в селекционном процессе, представляют также ценность как комплексные доноры.

Ключевые слова: генофонд, селекция, *Rvi6*, *Md-ACS1*, ДНК-маркеры

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке проекта Минобрнауки России «Национальная сетевая коллекция генетических ресурсов растений для эффективного научно-технологического развития РФ в сфере генетических технологий» по соглашению № 075-15-2021-1050 от 28.09.2021 г.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Супрун И.И., Егоров Е.А., Насонов А.И., Лободина Е.В., Токмаков С.В., Степанов И.В. Маркер-опосредованный отбор в создании селекционных образцов и комплексных доноров яблони с устойчивостью к парше и повышенным потенциалом лежкоспособности плодов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023; 184(3):135-145. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-135-145

DOMESTIC PLANT BREEDING AT THE PRESENT STAGE

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-135-145

Marker-assisted selection in the development of advanced apple-tree forms and donors combining scab resistance with increased fruit storability

Ivan I. Suprun, Evgeniy A. Egorov, Andrey I. Nasonov, Elena V. Lobodina, Sergey V. Tokmakov, Ilya V. Stepanov

*North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Krasnodar, Russia***Corresponding author:** Ivan I. Suprun, supruni@mail.ru

Background. Cultivation of scab-resistant apple cultivars with better fruit storability increases the economic efficiency and environmental friendliness of horticulture. Hence, the development of such cultivars is an important task in modern apple-tree breeding.

Materials and methods. A set of 646 hybrid plants obtained in six cross combinations (Renet Simirenko/Modi, Renet Simirenko/Smeralda, Renet Simirenko/Renoir, Renet Simirenko/Fujion, Renoir/Granny Smith, and Modi/Granny Smith) was studied. Their scab resistance was assessed under natural infection pressure for two years using a quantitative scale. The *Rvi6* gene was identified using the PCR analysis with the primer pair VFC1+VfC. The *Md-ACS1* gene alleles were detected with a known SCAR DNA marker. The chi-square test was applied for statistical confirmation of the data.

Results. Based on the DNA marker analysis, 328 plants carrying the dominant allele of the *Rvi6* gene were identified. The results of the phenotypic resistance assessment confirmed the correspondence of the resistant phenotype / dominant allele of the gene for most plants. Molecular genetics analysis of the *Md-ACS1* gene disclosed its allelic combinations. A total of 190, 322, and 126 plants carrying allelic variants of *Md-ACS1-2/2*, *Md-ACS1-1/2*, and *Md-ACS1-1/1*, respectively, were identified. Among the plants with the dominant allele of the scab resistance *Rvi6* gene, 92 plant forms were identified with *Md-ACS1-2/2*, and 143 heterozygous ones (*Md-ACS1-1/2*), also valuable for breeders.

Conclusion. A wide range of apple breeding forms carrying valuable alleles of the *Rvi6* and *Md-ACS1* genes were selected. Hybrid forms with target alleles of both genes responsible for important agronomic traits would contribute to the intensification of breeding efforts aimed at producing scab-resistant apple cultivars with increased fruit storability. They can also be used for breeding purposes as complex donors.

Keywords: gene pool, breeding, *Rvi6*, *Md-ACS1*, DNA markers

Acknowledgements: this work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under Agreement No. 075-15-2021-1050 dated September 28, 2021, entitled "National network collection of plant genetic resources for effective scientific and technical development of the Russian Federation in the sphere of genetic technologies". The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Suprun I.I., Egorov E.A., Nasonov A.I., Lobodina E.V., Tokmakov S.V., Stepanov I.V. Marker-assisted selection in the development of advanced apple-tree forms and donors combining scab resistance with increased fruit storability. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(3):135-145. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-135-145

Введение

Яблоки являются одними из самых потребляемых фруктов во всем мире; их производство постоянно увеличивается. Россия входит в топ-десять стран – производителей плодов яблони с показателем производства около 2 млн тонн в 2020 г. (<http://faostat.fao.org/>). Интенсификация производства плодов яблони и важность вопроса экологизации садоводства актуализирует создание устойчивых к патогенам сортов, в то время как растущая мировая конкуренция в данной отрасли обуславливает высокий уровень важности признаков качества плодов.

Важным направлением в селекции на устойчивость к патогенам при этом является создание сортов, устойчивых к парше – наиболее значимому микозу этой садовой культуры, вызываемому аскомицетом *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter (Sedov et al., 2020). Заболевание является причиной существенного ухудшения качества плодов и снижения продуктивности садового агроценоза (Yakuba, 2013).

Наиболее востребованными стратегиями в снижении развития данного заболевания являются контроль с применением химических средств и использование устойчивых сортов яблони в промышленном садоводстве, что позволяет повысить экологичность производства.

Ген устойчивости *Rvi6*, впервые выявленный у образца *Malus floribunda* 821, обеспечивает устойчивость к широкому спектру рас возбудителя парши и является одним из наиболее востребованных при создании устойчивых сортов, обеспечивая устойчивость для рас с первой по пятую (Pikunova, Sedov, 2019). Для данного гена выполнено картирование на геноме яблони и установлен ряд ДНК-маркеров, с ним косегрегирующих (Afuniyan et al., 2004). Селекционные программы и работы по фенотипической оценке устойчивости и молекулярно-генетическому скринингу генофонда на наличие генетических детерминант устойчивости к парше, включая ген *Rvi-6*, выполняются во многих странах с развитой культурой возделывания яблони, в том числе и в России (Sedov et al., 2020; Ulyanovskaya et al., 2019; Lyzhin, Savel'eva, 2021; Papp et al., 2020; Höfer et al., 2021).

Наряду с устойчивостью к парше, важное место в селекции яблони занимают признаки качества плодов. Комплекс показателей качества плодов включает группы таких характеристик, как внешний вид, вкус плодов, структура мякоти, биохимический состав, лежкоспособность и транспортабельность. Условно показатели качества могут быть разделены на потребительские и технологические характеристики. Одним из наиболее важных признаков, влияющим одновременно как на потребительские, так и технологические качества, является лежкоспособность плодов, которая в значительной степени обеспечивается сохранением плотности мякоти плода на высоком уровне при длительном хранении. Следует отметить, что плотность мякоти плодов яблони и ее сохранение на высоком уровне – это сложный полигенный признак, обусловленный влиянием нескольких биохимических процессов в клетках плода (Ji, Wang, 2021; Longhi et al., 2013; Costa et al., 2008).

Одним из наиболее важных факторов, влияющих на сохранность плотности мякоти плода при хранении, является уровень синтеза эндогенного этилена в плодах. Плоды с низким уровнем синтеза способны к длительному хранению без снижения плотности и разрыхления мякоти (Tokmakov et al., 2015).

Известно, что одним из ключевых генов, контролирующих эндогенный синтез этилена в плодах яблони, является ген аминокцил-циклопропан-синтазы – *Md-ACS1*. Сорта, гомозиготные по аллелю 2 данного гена (*Md-ACS1-2/2*), имеют плоды со сниженным уровнем синтеза этилена при хранении и, соответственно, повышенную лежкоспособность. Данный аллельный вариант является наиболее селекционно ценным. При этом аллельная комбинация *Md-ACS1-1/1* обуславливает, как правило, высокий уровень синтеза этилена, в то время как аллельная комбинация *Md-ACS1-1/2* – средний (Harada et al., 2000; Costa et al., 2005). Анализ нуклеотидных последовательностей аллелей гена *Md-ACS1* позволил выявить вставку ретротранспозона (около 160 пар нуклеотидов (пн) в последовательности *Md-ACS1-2* (Nybom et al., 2013). На основании данного сайта инсерции ретротранспозона был разработан ДНК-маркер, позволяющий проводить молекулярно-генетическую идентификацию аллелей: 655 пн для аллеля *Md-ACS1-2* и 489 пн для *Md-ACS1-1* (Harada et al., 2000). С применением ДНК-маркерного анализа выполнен широкий перечень работ по молекулярно-генетической идентификации аллелей данного гена в мировом генофонде яблони (Zhu, Barritt, 2008; Nybom et al., 2013).

Наряду с геном *Md-ACS1*, установлен вклад в генетический контроль признака плотности мякоти и изменения ее структуры при хранении для таких генов, как *Md-ACO1* (Zhu, Barritt, 2008), *Md-Exp7* (Costa et al., 2008), *Md-PG1* (Longhi et al., 2013), *Md-ACS3a* (Bai et al., 2012), и выполнен широкий перечень исследований, направленных на валидацию и анализ степени их вклада в фенотипическое проявление признака, а также генов *MdERF3* и *MdERF118* (Wu et al., 2021), выявленных в результате исследования генетического контроля сохранения плотности мякоти с использованием гибридной популяции, полученной от межвидового скрещивания (*Malus domestica* × *M. asiatica*), однако для них на сегодняшний день отсутствуют данные о взаимосвязи генотип / фенотип, полученные на широкой выборке образцов яблони домашней. При этом в ряде работ, направленных на оценку вклада гена *Md-ACS1*, установлено значимое влияние данного гена на формирование фенотипического проявления признака. Так, в работе по сравнительной оценке степени влияния генов *Md-ACS1* и *Md-ACS3a* на уровень синтеза этилена и степень лежкости плодов был выявлен более высокий уровень влияния гена *Md-ACS1* (Dougherty et al., 2016). В исследованиях по разработке SNP-чипа для MAS-селекции и его валидации наибольшая связь с фенотипическим проявлением целевого признака была установлена для SNP-маркеров генов *Md-PG1* и *Md-ACS1* (Chagné et al., 2019).

Стоит отметить, что в российской генплазме яблони селекционно ценный аллель *Md-ACS1-2* в гомозиготном состоянии встречается очень редко. При этом его комбинация с геном *Rvi-6* не выявлена (Shamshin et al., 2020; Suprun, Tokmakov, 2013).

Одним из важных факторов эффективного решения селекционных задач является наличие генетических ресурсов, позволяющих получить селекционный материал с заданными свойствами. Поэтому вопрос мобилизации генофонда, его всесторонней оценки и создания комплексных доноров целевых генов хозяйственно ценных признаков в связи с этим является актуальным и одним из приоритетных в генетических исследованиях растений. Наличие образцов, несущих целевые аллели генов «интереса», необходимо для решения селекционных за-

дач. Наглядным может быть пример с геном *Rvi-6*. Обнаружение данного гена, его интрогрессия в культурную генплазму из вида *Malus floribunda* Siebold ex Van Houtte (King et al., 1999) и создание устойчивых к парше форм на основе культурных сортов позволили в последующем создать широкий перечень устойчивых сортов нового поколения в разных регионах возделывания яблони в мире (Sedov et al., 2020; Ulyanovskaya et al., 2019; Papp et al., 2020; Höfer et al., 2021). Несмотря на то что устойчивость данного гена была преодолена, данный ген широко задействован в селекции в настоящее время, так как обеспечивает устойчивость к большинству известных рас патогена при том, что в случае поражения паршой сорта, несущие данный ген, проявляют балл поражения не более 1-2. Расы *Venturia inaequalis*, преодолевающие устойчивость, детерминированную данным геном, не распространены повсеместно в мире. При этом на территории России нет прецедентов преодоления устойчивости, детерминированной данным геном (Pikunova, Sedov, 2019; Sedov et al., 2020; Ulyanovskaya et al., 2019).

В России интродукция образца «Сеянец 814» (*M. floribunda* 821 × Голден Делишес), являющегося донором гена *Rvi-6*, позволила начать выполнение крупномасштабной селекционной программы по созданию иммунных к парше сортов яблони под общим руководством академика РАН Е. Н. Седова (Sedov, Zhdanov, 1983). Был создан ряд устойчивых сортов, которые как послужили донорами гена для создания сортов нового поколения в различных профильных научных организациях РФ, так и были напрямую использованы в производстве (Sedov et al., 2020; Ulyanovskaya et al., 2019).

Очевидно, что создание генотипов, несущих селекционно ценные аллели одновременно нескольких генов, детерминирующих хозяйственно ценные признаки, обладает наиболее высоким уровнем актуальности и значимости, так как позволяет сформировать генофонд, являющийся основой для ускорения селекции и получения сортов нового поколения, конкурентных на мировом уровне. В связи с этим нами была поставлена задача создания селекционных образцов яблони, несущих приоритетные аллели гена устойчивости яблони к парше *Rvi6* и гена *Md-ACS-1*, контролирующего синтез энодгенного этилена в плодах, на основе востребованных в производстве сортов, имеющих длительную историю культивирования в Северо-Кавказском регионе – регионе с наибольшим уровнем развития садоводства в России.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в 2017–2021 гг. на вегетационной площадке и в селекционно-биотехнологической лаборатории Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия (СКФНЦСВВ). Объектом являлись шесть гибридных популяций, полученных в результате скрещивания сортов позднего срока созревания, имеющих длительную историю культивирования в регионе и востребованных в садоводстве региона – ‘Ренет Симиренко’ (*rvi-6rvi-6*, *Md-ACS-1/2*) и ‘Гренни Смит’ (*rvi-6rvi-6*, *Md-ACS-1/2*), но восприимчивых к парше, и сортов нового поколения итальянской селекции, несущих ген *Rvi6* (*Vf*): ‘Моди’ (*Md-ACS-1/2*), ‘Ренуар’ (*Md-ACS-1/2*), ‘Смеральда’ (*Md-ACS-2/2*), ‘Фуджион’ (*Md-ACS-2/2*), обладающих потребительской привлекательностью и высоким качеством плодов: Ренет Симиренко/Моди (2016-1), Ренет Симиренко/Смеральда (2016-2), Ренет Симиренко/Ренуар (2016-3), Ре-

нет Симиренко/Фуджион (2016-4), Ренуар/Гренни Смит (2016-5), Моди/Гренни Смит (2016-6).

Фитопатологическое тестирование сеянцев проводили в условиях естественного инфекционного фона возбудителя парши яблони на вегетационной площадке СКФНЦСВВ в 2018–2019 гг. Источник фона – насаждение высоковосприимчивого сорта ‘Айдаред’, в котором не проводились санитарные мероприятия.

На формирование инфекционного фона оказали влияние погодно-климатические особенности года. Метеоусловия 2018 г. характеризовались повышенными относительно климатической нормы среднемесячными значениями температуры и сниженными показателями увлажнения и количества осадков, что привело к замедлению накопления вторичной инфекции и, как следствие, депрессивному развитию парши. В 2019 г. наблюдалось эпифитотийное развитие болезни. Относительно невысокая температура мая в совокупности с количеством осадков, превышающим на 30% норму, способствовали первичному заражению яблони и интенсивному развитию патогена.

Оценку пораженности гибридных сеянцев *V. inaequalis* проводили в начале июля с использованием количественной шкалы. Она предполагала 6 градаций развития симптомов болезни от 0 до 5, различающихся долей покрытия поражениями парши листовой пластинки (Sedov, Zhdanov, 1983).

Препараты ДНК получали из свежих верхушечных молодых листьев сеянцев с использованием метода СТАВ (Murray, Thompson, 1980).

Для молекулярно-генетической идентификации гена *Md-ACS1* использовали SCAR-ДНК-маркер (Harada et al., 2000). ПЦР проводили по следующей программе: 2 мин при 94°C; следующие 35 циклов: 45 с при 94°C, 45 с при 58°C, 2 мин синтез при 72°C; финальный цикл синтеза 5 мин при 72°C. Для проведения идентификации гена устойчивости к парше *Rvi6* использовали молекулярный маркер *VfC1+VfC2* (Afunian et al., 2004). ПЦР проводили по следующей программе: денатурация 3 мин при 94°C; далее 35 циклов: 10 с при 94°C – денатурация, 45 с при 60°C – отжиг праймеров, 45 с при 72°C – элонгация; завершающий цикл элонгации – 5 мин при 72°C.

При этом использовали следующие концентрации компонентов реакционной смеси (идентичные для ДНК-маркеров целевых генов): 0,05 мМ дезоксинуклеотидтрифосфатов, 0,3 мкМ каждого праймера, 2,5 мкл ПЦР-буфера (600 мМ Tris-HCl (pH 8.5 при 25°C); 15 мМ MgCl₂; 250 мМ KCl; 100 мМ 2-меркаптоэтанол; 1% Тритон X-100) и 1 ед. Taq ДНК-полимеразы (ООО «СибЭнзим», кат. № E331), 50 нг ДНК. ПЦР проводили в общем объеме 25 мкл.

Для анализа размеров продуктов ПЦР использовали электрофорез в 2-процентном агарозном геле на основе 0,5-кратного трис-боратного буфера с последующей визуализацией в ультрафиолете после окрашивания гелевых пластин в 1-процентном растворе бромистого этидия.

Анализ достоверности соотношения растений с разным типом реакции устойчивости к парше, а также с различными аллельными вариантами целевых генов, проводили согласно общепринятым методам расчета (Lobashev, 1969).

Результаты исследований

Оценка устойчивости гибридных сеянцев к парше на естественном инфекционном фоне позволила нам разде-

лить экспериментальную выборку гибридных растений на устойчивые и восприимчивые (табл. 1).

Как видно из таблицы 1, наблюдалось варьирование числа устойчивых и восприимчивых образцов в разные годы. Суммарно в 2018 г. было идентифицировано 371 устойчивое растение и 357 растений в 2019 г. Одна из основных причин такого варьирования могла заключаться в более оптимальных погодных условиях для развития инфекции в 2019 г. Это согласуется с тем фактом, что количество пораженных на 3–5 баллов сеянцев в 2019 г. было в 1,4 раза больше, чем в 2018 г. Для большинства гибридных популяций было выявлено соотношение устойчивых и восприимчивых растений, соответствующее ожидаемому 1 : 1, характерному для моногенного наследования признака, за исключением гибридной популяции 2016-6. В данной комбинации скрещивания (Моди/Гренни Смит) по результатам фитопатологического тестирования в 2018 и в 2019 г. наблюдалось смещение соотношения устойчивых и восприимчивых растений в сторону увеличения устойчивых растений, которые составили около 68% от общего количества в данной гибридной комбинации.

На следующем этапе работы для всех экспериментальных растений, независимо от фенотипического проявления устойчивости, провели молекулярно-генетическую идентификацию гена *Rvi6*. Это позволило сопоставить данные о фенотипе устойчивости и наличии доминантного аллеля гена, определяющего устойчивость

к патогену, для подтверждения эффективности фитопатологической оценки в условиях естественного инфекционного фона, проведенной в ходе работы и последующего формирования оптимального алгоритма MAS – отбора по устойчивости к парше. На рисунке 1 приведен пример ДНК-маркерной идентификации целевого аллеля гена *Rvi6*.

Образцы 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 13 и 16 имеют продукт ПЦР с размером 286 пн, который отмечен стрелкой у сорта-контроля ('Флорина'). Он соответствует наличию доминантного аллеля. Суммарно при анализе растений, входящих в шесть изученных гибридных популяций, было выявлено 328 растений, несущих доминантный аллель искомого гена, и 295 растений с рецессивным аллелем (табл. 2).

Соотношение растений с доминантным и рецессивным аллелем варьировало, но для всех гибридных комбинаций, за исключением 2016-6, соответствовало распределению 1 : 1, которое характерно для моногенного наследования устойчивости и гетерозиготности локуса у сортов-доноров гена. Подтвержденное при молекулярно-генетической идентификации нарушение соотношения 1 : 1 в гибридной популяции 2016-6 показывает, что это отклонение обусловлено не недостаточностью силы инфекционного фона, а иными причинами.

С учетом того факта, что селекционно ценный аллель *Md-ACS1-2* в гомозиготном состоянии достаточно редко распространен в российской генплазме яблони, молеку-

Таблица 1. Фенотипическая реакция гибридных растений на естественный инфекционный фон парши яблони в 2018 и 2019 г.

Table 1. Phenotypic response of apple-tree hybrid plants to natural scab infection pressure in 2018 and 2019

Семья / Cross combination	Устойчивые / Resistant		Восприимчивые / Susceptible		χ^2 (1 : 1)*	
	2018	2019	2018	2019	2018	2019
2016-1	116	110	92	98	2,77	0,69
2016-2	65	63	58	60	0,40	0,07
2016-3	52	50	50	52	0,04	0,04
2016-4	24	23	22	23	0,09	0,00
2016-5	13	11	7	9	1,80	0,20
2016-6	101	100	46	47	20,58**	18,52**
Всего	371	357	275	289		

Примечание: * χ^2 крит. = 3,8 (0,05, 1); ** χ^2 факт. $\geq \chi^2$ крит.

Notes: * χ^2 crit. = 3.8 (0.05, 1); ** χ^2 fact. $\geq \chi^2$ crit.

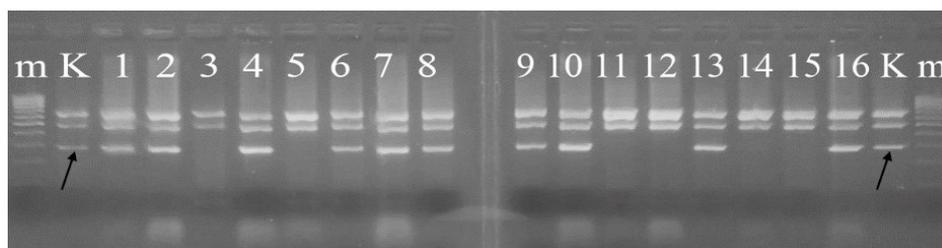


Рис. 1. Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР с ДНК-маркером гена *Rvi6* (гибридные образцы, полученные в комбинации скрещиваний 2016-6): m – маркер молекулярной массы ДНК; K – сорт-контроль 'Флорина' (*Rvi6+*); 1–16 – гибридные образцы

Fig. 1. Results of PCR-assisted identification of the *Rvi6* gene (hybrid forms obtained in the 2016-6 cross combination): m – DNA molecular weight marker; K – cv. 'Florina' (control) (*Rvi6+*); 1–16 – hybrid forms

Таблица 2. Молекулярно-генетическая идентификация гена *Rvi6*Table 2. Molecular genetic identification of the *Rvi6* gene

Семья / Cross combination	<i>Rvi6rvi6</i>	<i>rvi6rvi6</i>	Нет данных*** / No data***	$\chi^2 (1 : 1)^*$
2016-1	105	103	0	0,02
2016-2	60	57	6	0,03
2016-3	41	53	8	1,53
2016-4	22	24	0	0,09
2016-5	13	7	0	1,80
2016-6	87	51	9	8,81**
Всего	328	295	23	

Примечание: * χ^2 крит. = 3,8 (0,05; 1); ** χ^2 факт. $\geq \chi^2$ крит.; *** ПЦР не была проведена

Note: * χ^2 crit. = 3.8 (0.05; 1); ** χ^2 fact. $\geq \chi^2$ crit.; ***PCR was not performed

лярно-генетическая идентификация аллелей гена *Md-ACS1* была выполнена для всех гибридных растений, независимо от наличия гена *Rvi6*. На представленной электрофореграмме (рис. 2) наличие двух фрагментов, соответствующее гетерозиготности локуса гена *Md-ACS1*, идентифицируется у наибольшего количества образцов (2, 4, 7, 8, 9–14 и 16). Селекционно ценный аллель 2 (ПЦР-

продукт 655 пн) в гомозиготном состоянии выявлен у образца № 5, а наименее приоритетный для селекции аллель 1 – у образцов № 1, 3, 6 и 15.

Суммарно в изученной выборке растений было выявлено 190 образцов, несущих аллель 2 в гомозиготе, 322 образца, гетерозиготных по локусу гена *Md-ACS1*, и 126 образцов, гомозиготных по аллелю 1 (табл. 3).

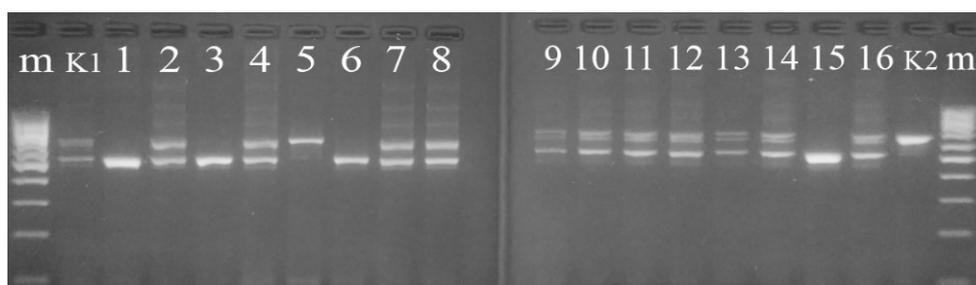


Рис. 2. Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР с ДНК-маркером гена *Md-ACS1* (гибридные образцы, полученные в комбинации скрещиваний 2016- 3): m – маркер молекулярной массы ДНК; K1 – сорт-контроль ‘Ренет Симиренко’ (*Md-ACS1-1/2*), K2 – сорт-контроль ‘Фуджи’ (*Md-ACS1-2/2*); 1–16 – гибридные образцы

Fig. 2. Results of PCR-assisted identification of the *Md-ACS1* gene alleles (hybrid forms obtained in the 2016-3 cross combination): m – DNA molecular weight marker; K1 – cv. ‘Renet Simirenko’ (control) (*Md-ACS1-1/2*); K2 – cv. ‘Fuji’ (control) (*Md-ACS1-2/2*); 1–16 – hybrid forms

Таблица 3. Молекулярно-генетическая идентификация аллелей гена *Md-ACS1*Table 3. Molecular genetic identification of the *Md-ACS1* gene alleles

Семья / Cross combination	<i>Md-ACS1-2/2</i>	<i>Md-ACS1-1/2</i>	<i>Md-ACS1-1/1</i>	χ^{2*} (расщепление) / χ^{2*} (segregation)
2016-1	47	96	65	4,840 (1 : 2 : 1)
2016-2	61	62	0	0,008 (1 : 1)
2016-3	22	59	21	2,500 (1 : 2 : 1)
2016-4	22	24	0	0,087 (1 : 1)
2016-5	5	13	2	2,700 (1 : 2 : 1)
2016-6	34	72	41	0,730 (1 : 2 : 1)
Всего	191	326	129	

Примечание: * χ^2 крит. = 3,8 (0,05; 1); χ^2 крит. = 6,0 (0,05; 2)

Note: * χ^2 crit. = 3.8 (0.05; 1); χ^2 crit. = 6.0 (0.05; 2)

В гибридных семьях 2016-2 и 2016-4 образцы, несущие аллель 1 в гомозиготе, отсутствовали. В данных выборках растений было выявлено статистически достоверное соотношение 1 : 1 между группами образцов с аллелем 2 в гомозиготе и группой образцов, гетерозиготных по локусу *Md-ACS1*. В остальных гибридных семьях наблюдалось статистически достоверное распределение по типу 1 : 2 : 1.

Обсуждение результатов

Очевидно, что для отбора образцов яблони, устойчивых к парше, на основе фенотипической оценки необходимо успешное протекание процесса инфицирования растения-хозяина патогеном. Это может быть обеспечено наличием условий, оптимальных для развития заболевания, что приобретает особую актуальность при использовании естественного инфекционного фона (Sedov, Zhdanov, 1983, Gashchenko, Kozlovskaya, 2008) в связи с отсутствием возможности контроля влажностно-температурного режима. Отмеченные различия в количестве здоровых и инфицированных семян в разные годы оценки признака были обусловлены более благоприятными погодно-климатическими условиями для развития *V. inaequalis*, так как 2019 год в сравнении с предыдущим характеризовался более низкой температурой и большим количеством осадков, особенно в период начала развития инфекции.

Статистический анализ характера расщепления по фенотипу устойчивости к парше показал соответствие моногенному характеру наследования и гетерозиготность (*Rvi6rvi6*) по локусу целевого гена во всех гибридных популяциях, за исключением 2016-6 (Моди/Гренни Смит). По двум годам наблюдений выявлено повышенное количество устойчивых растений по отношению к восприимчивым (см. табл. 1). По результатам ДНК-маркерного анализа в выборке растений из данной гибридной комбинации также было выявлено отклонение от соотношения 1 : 1 количества растений в группах с идентифицированным доминантным аллелем и без такового (см. табл. 2). Нарушение стандартного соотношения 1 : 1 при анализе устойчивости, детерминируемой геном *Rvi6*, – в определенной степени распространенное явление и выявлялось ранее как отечественными (Sedov, Zhdanov, 1983), так и зарубежными исследователями (Gardiner et al., 2007). Так, по многолетним данным В. В. Жданова и Е. Н. Седова, снижение (до 32–45%) или повышение (до 54–66%) выхода устойчивых гибридных семян зависело от комбинации скрещиваний (Sedov, Zhdanov, 1983). Аналогичные данные приводятся в работе Т. А. Гашенко и З. А. Козловской, в исследованиях которых минимальный выход устойчивых семян составил 34%, а максимальный – 73%, в зависимости от гибридной комбинации (Gashchenko, Kozlovskaya, 2008). В качестве главной причины данного явления можно назвать наличие серии сублетальных генов *sl1*, *sl2*, *sl3*, из которых *sl1* и *sl2* сцеплены с геном *Rvi6*. При этом для экспрессии *sl1* необходимо наличие рецессивного аллеля *sl3* в гомозиготе. Данные гены определяют карликовость и значительное снижение силы роста семян в течение первых трех месяцев их развития после прорастания и в большем числе случаев последующую их гибель. Отмечено, что чаще всего действие данных генов обуславливает снижение выхода гибридных семян с геном *Rvi6*, но в некоторых гибридных комбинациях наблюдается увеличение числа устойчивых гибридов (Gao, van de Weg, 2006).

Сопоставление данных ДНК-маркерной идентификации и фенотипического проявления устойчивости позволило в большинстве случаев подтвердить наличие искомого гена у устойчивых растений и его отсутствие у восприимчивых. Ожидаемыми были два варианта сочетания характеристик: гетерозигота по гену устойчивости и реакция устойчивости при инфицировании патогеном, а также гомозигота по рецессивному аллелю гена *Rvi6* в сочетании с восприимчивой реакцией семян. Кроме этого, имели место варианты, проявившие восприимчивую реакцию в отношении патогена, но несущие доминантный аллель гена устойчивости, а также устойчивые семена, имевшие рецессивный аллель в гомозиготе.

Самым распространенным артефактным вариантом было сочетание фенотипа «устойчивости» с отсутствием гена устойчивости, но не более 7% встречаемости, которая была отмечена для самой крупной гибридной семьи 2016-1. В целом для всех гибридных семей вместе такой вариант встречался у 1,4% семян. Причиной этого артефакта был, вероятнее всего, недостаточный уровень инфекционного фона, создавший менее оптимальные условия для развития заболевания, так как в 2019 г. количество таких совпадений было меньше чем в 2018 г.

Вариант «*Rvi6rvi6* / восприимчивые» встречался реже и был представлен только в популяциях семян 2016-1 (около 4% случаев) и 2016-6 (1%). Выявление семян с сочетаниями «ген+ / восприимчивый», когда ген устойчивости присутствовал, а фенотип проявлялся как восприимчивый, отчасти может быть обусловлено сложностью в интерпретации качественных проявлений реакций устойчивости. Но наиболее вероятно, что присутствие такого варианта (*Rvi6rvi6* / восприимчивый) может быть объяснено наличием генетических детерминант-«модификаторов» – количественных локусов (QTL) с малым вкладом в фенотипическое проявление признака устойчивости, локализованных на одной группе сцепления с геном *Rvi6*. Было выявлено наличие нескольких QTL, которые, обладая аддитивным эффектом, модифицируют фенотипическую реакцию, детерминируемую геном *Rvi6*. При этом экспрессия части этих QTL идентифицируется только при наличии данного гена, а другие экспрессируются независимо от него (Gessler et al., 2006). Это является причиной и того, что при скрещивании двух гетерозиготных растений гомозиготы по локусу данного гена проявляют более высокий уровень устойчивости, нежели гетерозиготное потомство. Тот факт, что в нашем исследовании образцы, несущие ген, но проявившие восприимчивость, присутствовали в двух гибридных популяциях из шести, а не наблюдались во всех комбинациях, согласуется с генетической детерминированностью этого явления и комплексностью его контроля.

В рамках работы по маркер-опосредованному отбору генотипов, обладающих комплексом хозяйственно ценных генов, анализ результатов, полученных при ДНК-маркерной идентификации гена *Md-ACS1*, выявил различное соотношение аллельных вариантов в гибридных популяциях в зависимости от комбинации скрещивания. Распределение аллельных вариантов 1 : 2 : 1, характерное для комбинаций скрещиваний 2016-1, 2016-3, 2016-5, 2016-6 и 1 : 1, выявленное в комбинациях 2016-2 и 2016-4, согласуется с аллельными вариантами данного гена, идентифицированными на начальном этапе работы у родительских форм. Сорты 'Фуджион' и 'Смеральда' имеют аллель 2 в гомозиготе (вариант *Md-ACS1-2/2*), в то время

как у всех остальных сортов, использовавшихся в качестве родительских форм, было выявлено гетерозиготное состояние локуса данного гена – *Md-ACS1-1/2*.

Проведенное сопоставление результатов молекулярно-генетического маркирования по гену устойчивости *Rvi6* и гену *Md-ACS1* позволило выявить селекционно ценные сочетания аллелей искомых генов во всех гибридных популяциях (табл. 4).

Таблица 4. Комбинации селекционно ценных аллелей генов *Rvi6* и *Md-ACS1* у гибридных образцов яблони
Table 4. Allelic combinations of the *Rvi6* and *Md-ACS1* genes in apple-tree hybrid forms

Семья / Cross combination	<i>Rvi6</i> + <i>Md-ACS1-2/2</i>		<i>Rvi6</i> + <i>ACS1-1/2</i>	
	Количество / Number	%	Количество / Number	%
2016-1	18	8,69	40	19,32
2016-2	33	27,5	27	22,5
2016-3	4	7,69	20	38,46
2016-4	12	26,09	10	21,74
2016-5	1	5,00	6	30,00
2016-6	24	17,14	40	28,57
Итого	92		143	

Наибольший процент семян с сочетанием доминантного аллеля гена *Rvi6* и гомозиготой по аллелю 2 гена *Md-ACS1*, наиболее ценной для селекции, был обнаружен в комбинациях 2016-2 (Ренет Симиренко/Смеральда) – 27,5% и 2016-4 (Ренет Симиренко/Фуджион) – 26,09%. Это соответствует наибольшему выходу гибридов с аллельным вариантом *Md-ACS1-2/2* по причине наличия аллеля 2 в гомозиготном состоянии у одного из родительских сортов в данных комбинациях скрещиваний (сорта ‘Смеральда’ и ‘Фуджион’).

Полученные нами гибридные образцы, несущие комбинацию аллелей целевых генов *Rvi6+Md-ACS1-2/2*, представляют наиболее высокую ценность как для дальнейшего использования в селекции, так и в качестве комплексных доноров селекционно ценных аллелей. Их наличие позволит ускорить решение селекционных задач по созданию сортов яблони, имеющих устойчивость к парше и повышенную лежкоспособность плодов. Не менее важным направлением использования полученного гибридного фонда является уточнение фенотипического вклада всех известных генетических детерминант признаков, связанных с плотностью мякоти и ее сохранением при хранении, а также валидация известных ДНК-маркеров этих генов.

Работы, направленные на объединение селекционно ценных аллелей в одном генотипе и создание комплексных доноров, проводятся в ведущих профильных научных центрах в мире. Так, в результате выполнения программы международного коллектива из Швейцарии и Германии с применением технологии маркер-опосредованного отбора был создан набор элитных линий яблони с пирамидированными генами устойчивости к парше, мучнистой росе и бактериальному ожогу (Baumgartner et al., 2015). Данные линии позиционируются как важный источник комплекса генов селекционно ценных признаков для дальнейшей селекционной работы. В работе, выполненной в период с 2011 по 2017 г. в Италии, осуществляли пирамидирование пяти генов

устойчивости к парше *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi5*, *Rvi6* и *Rvi13*, а также гена устойчивости к тле *Dp-fl* в различных комбинациях (Bertra et al., 2017). Очевидно, что создание образцов, обладающих одновременно несколькими генами хозяйственно ценных признаков, – принципиальный вопрос для ускоренного решения задач селекции. Это позволяет более эффективно в ходе последующего селекционного отбора создавать новые сорта, а также использовать об-

разцы, несущие приоритетные аллели одновременно нескольких «селекционно ценных» генов в качестве комплексных доноров при выполнении программ скрещиваний.

Заключение

В результате выполнения работы с использованием маркер-опосредованного отбора был получен широкий перечень селекционных образцов яблони, несущих селекционно ценные аллели гена устойчивости к парше *Rvi6* и гена *Md-ACS1*, детерминирующего эндогенный синтез этилена в плодах. Из общей выборки объемом 646 гибридных растений, полученных в шести гибридных комбинациях, с использованием фитопатологической оценки и маркер-опосредованного отбора было выявлено 328 растений, несущих доминантный аллель гена *Rvi6*, и 517 образцов с аллельными комбинациями гена *Md-ACS1*, представляющими ценность для селекции: *Md-ACS1-2/2* – 190 шт., *Md-ACS1-1/2* – 322 шт. При этом идентифицирован значительный объем гибридов, обладающих одновременно доминантным аллелем гена *Rvi6* и приоритетным аллелем гена *Md-ACS1*, среди которых наибольшую ценность, как для селекции, так и для последующего использования в качестве комплексных доноров, представляют образцы, сочетающие аллельный вариант *Md-ACS1-2/2* и доминантный аллель гена *Rvi6*. Такая комбинация была выявлена у 92 растений.

Наличие полученных в результате работы гибридных форм яблони, несущих приоритетные аллели одновременно двух генов хозяйственно важных признаков, позволит усилить селекционную работу по созданию устойчивых к парше сортов яблони с повышенной лежкоспособностью плодов. Гибридные образцы с наилучшими аллельными комбинациями генов *Md-ACS1* и *Rvi6*, наряду с прямым использованием в селекционном процессе, представляют также ценность как комплексные доноры данных генов.

References / Литература

- Afunian M.R., Goodwin P.H., Hunter D.M. Linkage of *Vfa4* in *Malus × domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Plant Pathology*. 2004;53(4):461-467. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2004.01047.x
- Bai S., Wang A., Igarashi M., Kon T., Fukasawa-Akada T., Li T. et al. Distribution of *MdACS3* null alleles in apple (*Malus × domestica* Borkh.) and its relevance to the fruit ripening characters. *Breeding Science*. 2012;62(1):46-52. DOI: 10.1270/jsbbs.62.46
- Baumgartner I.O., Patocchi A., Frey J.E., Peil A., Kellerhals M. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous resistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight. *Plant Molecular Biology*. 2015;33(5):1573-1583. DOI: 10.1007/s11105-015-0858-x
- Berra L., Tartarini S., Adami M. Nari D., Pellegrino S. Pyramiding of multiple resistances to disease and marker-assisted selection. In: S. Tartarini, H. Nybom, F. Laurens, L. Dondini (eds). *XIV EUCARPIA Symposium on Fruit Breeding and Genetics. Acta Horticulturae 1172*. Bologna; 2017. Article No. 10. DOI: 10.17660/ActaHortic.2017.1172.10
- Chagné D., Vanderzande S., Kirk C., Profitt N., Weskett R., Gardiner S.E. et al. Validation of SNP markers for fruit quality and disease resistance loci in apple (*Malus × domestica* Borkh.) using the OpenArray® platform. *Horticultural Research*. 2019;6:30. DOI: 10.1038/s41438-018-0114-2
- Costa F., Stella S., van de Weg W.E., Guerra W., Cecchinell M., Dallavia J. et al. Role of the genes *Md-ACO1* and *Md-ACSI* in ethylene production and shelf life of apple (*Malus domestica* Borkh.). *Euphytica*. 2005;141(1-2):181-190. DOI: 10.1007/s10681-005-6805-4
- Costa F., van de Weg W.E., Stella S., Dondini L., Pratesi D., Musacchi S. et al. Map position and functional allelic diversity of *Md-Exp7*, a new putative expansin gene associated with fruit softening in apple (*Malus × domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus communis*). *Tree Genetics and Genomes*. 2008;4(3):575-586. DOI: 10.1007/s11295-008-0133-5
- Dougherty L., Zhu Y., Xu K. Assessing the allelotypic effect of two aminocyclopropane carboxylic acid synthase-encoding genes *MdACSI* and *MdACS3a* on fruit ethylene production and softening in *Malus*. *Horticultural Research*. 2016;3:16024. DOI: 10.1038/hortres.2016.24
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations: [website]. Available from: <http://faostat.fao.org/> [accessed Mar. 15, 2022].
- Gao Z.S., van de Weg W.E. The *Vf* gene for scab resistance in apple is linked to sub-lethal genes. *Euphytica*. 2006;151(1):123-132. DOI: 10.1007/s10681-005-9082-3
- Gardiner S.E., Bus V.G.M., Rusholme R.L., Chagné D., Rikkerink E.H.A. Apple. In: C. Kole (ed.). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants. Vol. 4. Fruits and Nuts*. Berlin; Heidelberg: Springer; 2007. p.1-62. DOI: 10.1007/978-3-540-34533-6_1
- Gashchenko T.A., Kozlovskaya Z.A. Scab resistance in self-rooted apple seedlings (Ustoychivost k parshe kornesobstvennykh seyantsev yabloni). *Fruit Growing*. 2008;20:16-23. [in Russian] [Гашченко Т.А., Козловская З.А. Устойчивость к парше корнесобственных сеянцев яблони. *Плодоводство*. 2008;20:16-23].
- Gessler C., Patocchi A., Sansavini S., Tartarini S., Gianfranceschi L. *Venturia inaequalis* resistance in apple. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2006;25(6):473-503. DOI: 10.1080/07352680601015975
- Harada T., Sunako T., Wakasa Y., Soejima J., Satoh T., Niizeki M. An allele of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (*Md-ACSI*) accounts for the low level of ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;101(5):742-746. DOI: 10.1007/s001220051539
- Höfer M., Flachowsky H., Schröpfer S., Peil A. Evaluation of scab and mildew resistance in the gene bank collection of apples in Dresden-Pillnitz. *Plants*. 2021;10(6):1227. DOI: 10.3390/plants10061227
- Ji Y., Wang A. Recent advances in phytohormone regulation of apple-fruit ripening. *Plants*. 2021;10(10):2061. DOI: 10.3390/plants10102061
- King G.J., Tartarini S., Brown L., Gennari F., Sansavini S. Introgression of the *Vf* source of scab resistance and distribution of linked marker alleles within the *Malus* gene pool. *Theoretical and Applied Genetics*. 1999;99(6):1039-1046. DOI: 10.1007/s001220051412
- Lobashev M.E. Genetics (Genetika). Leningrad; 1969. [in Russian] [Лобашев М.Е. Генетика. Ленинград; 1969].
- Longhi S., Cappellin L., Guerra W., Costa F. Validation of a functional molecular marker suitable for marker-assisted breeding for fruit texture in apple (*Malus domestica* Borkh.). *Molecular Breeding*. 2013;32(4):841-852. DOI: 10.1007/s11032-013-9912-2
- Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Marker-assisted screening of scab resistant (*Rvi6+Rvi4*) apple genotypes. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2021;67(1):1-9. [in Russian] [Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Маркер-опосредованный скрининг иммунных к парше (*Rvi6+Rvi4*) генотипов яблони. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2021;67(1):1-9]. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9
- Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 1980;8(19):4321-4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321
- Nybom H., Ahmadi-Afzadi M., Sehic J., Hertog M. DNA marker-assisted evaluation of fruit firmness at harvest and post-harvest fruit softening in a diverse apple germplasm. *Tree Genetics and Genomes*. 2013;9(1):279-290. DOI: 10.1007/s11295-012-0554-z
- Papp D., Gao L., Thapa R., Olmstead D., Khan A. Field apple scab susceptibility of a diverse *Malus* germplasm collection identifies potential sources of resistance for apple breeding. *CABI Agriculture and Bioscience*. 2020;1(1):16. DOI: 10.1186/s43170-020-00017-4
- Pikunova A.V., Sedov E.N. The racial composition of *Venturia inaequalis* in environments of the Oryol region. *Mycology and Phytopathology*. 2019;53(5):293-300. DOI: 10.1134/S0026364819050040
- Sedov E.N., Yanchuk T.V., Korneeva S.A. Directions and summarized the apple selection. *Vestnik of the Russian Agricultural Science*. 2020;(3):8-12. [in Russian] [Седов Е.Н., Янчук Т.В., Корнеева С.А. Направления и краткие итоги селекции яблони. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020;(3):8-12]. DOI: 10.30850/vrsn/2020/3/8-12
- Sedov E.N. Zhdanov V.V. Scab resistance (Ustoychivost yabloni k parshe). Orel; 1983. [in Russian] [Седов Е.Н. Жданов В.В. Устойчивость яблони к парше. Орел; 1983].
- Shamshin I.N., Telezhinskiy D.D., Shlyavas A.V. Evaluation of apple varieties of the Sverdlovsk horticultural breeding station according to the ethylene biosynthesis genes using molecular markers. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2020;21(6):706-712. [in Russian] [Шамшин И.Н., Тележинский Д.Д., Шлявас А.В. Оценка сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства по генам биосинтеза этилена с использова-

- нием молекулярных маркеров. *Аграрная наука Северо-Востока*. 2020;21(6):706-712. DOI: 10.30766/2072-9081.2020.21.6.706-712
- Suprun I.I., Tokmakov S.V. Allelic diversity of ethylene biosynthesis-related *MD-ACS1* and *MD-ACO1* genes in Russian apple germplasm. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(2):202-206. [in Russian] (Супрун И.И., Токмаков С.В. Изучение аллельного разнообразия генов синтеза этилена *MD-ACS1* и *MD-ACO1* в отечественной генплазме яблони. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013;17(2):202-206).
- Tokmakov S.V., Suprun I.I., Ilnitskaya E.T. Advances in the study of molecular and genetic control of the apple-tree ethylene biosynthesis (*Malus domestica* Borkh.). *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2015;35(5):28-48. [in Russian] (Токмаков С.В., Супрун И.И., Ильницкая Е.Т. Достижения в изучении молекулярно-генетического контроля биосинтеза этилена у яблони (*Malus domestica* Borkh.). *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2015;35(5):28-48).
- Ulyanovskaya E.V., Suprun I.I., Tokmakov S.V., Atabiyev K.M., Belenko E.A. The use of genetic diversity in apple breeding for scab resistance. *Bulletin of the State Nikita Botanical Gardens*. 2019;(133):211-216. [in Russian] (Ульяновская Е.В., Супрун И.И., Токмаков С.В., Атабиев К.М., Беленко Е.А. Использование генетического разнообразия в селекции яблони на устойчивость к парше. *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада*. 2019;(133):211-216). DOI: 10.36305/0513-1634-2019-133-211-216
- Wu B., Shen F., Wang X., Zheng W.Y., Xiao C., Deng Y. et al. Role of *MdERF3* and *MdERF118* natural variations in apple flesh firmness/crispness retainability and development of QTL-based genomics-assisted prediction. *Plant Biotechnology Journal*. 2021;19(5):1022-1037. DOI: 10.1111/pbi.13527
- Yakuba G.V. Ecologized protection of apple trees from scab under climate change: a monograph (Ekologizirovannaya zashchita yabloni ot parshi v usloviyakh klimaticheskikh izmeneniy: monografiya). Krasnodar: North Caucasian FSC of Horticulture, Viticulture, Wine-making; 2013. [in Russian] (Якуба Г.В. Экологизированная защита яблони от парши в условиях климатических изменений: монография. Краснодар: СКЗНИИСиВ; 2013).
- Zhu Y., Barritt B.H. *Md-ACS1* and *Md-ACO1* genotyping of apple (*Malus × domestica* Borkh.) breeding parents and suitability for marker-assisted selection. *Tree Genetics and Genomes*. 2008;4(3):555-562. DOI: 10.1007/s11295-007-0131-z

Информация об авторах

Иван Иванович Супрун, кандидат биологических наук, заведующий научным центром, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, supruni@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0355-8395>

Евгений Алексеевич Егоров, академик РАН, доктор экономических наук, директор, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, kubansad@kubannet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5330-0352>

Андрей Иванович Насонов, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, nasoan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4927-2192>

Елена Вадимовна Лободина, младший научный сотрудник, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, alyona2255@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3580-2316>

Сергей Вячеславович Токмаков, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, ad-a-m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2092-7757>

Илья Владимирович Степанов, младший научный сотрудник, Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, 350901 Россия, Краснодар, ул. 40 лет Победы, 39, ivstepanof@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

Information about the authors

Ivan I. Suprun, Cand. Sci. (Biology), Head of a Scientific Center, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, supruni@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0355-8395>

Evgeniy A. Egorov, Full Member (Academician) of the RAS, Dr. Sci. (Economics), Director, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, kubansad@kubannet.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5330-0352>

Andrey I. Nasonov, Cand. Sci. (Biology), Head of a Laboratory, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, nasoan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4927-2192>

Elena V. Lobodina, Associate Researcher, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, alyona2255@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3580-2316>

Sergey V. Tokmakov, Cand. Sci. (Biology), Head of a Laboratory, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, Russia, ad-a-m@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2092-7757>

Ица V. Stepanov, Associate Researcher, North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, 39 40 let Pobedy St., Krasnodar 350901, Russia, ivstepanof@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 07.07.2023; одобрена после рецензирования 25.08.2023; принята к публикации 04.09.2023.
The article was submitted on 07.07.2023; approved after reviewing on 25.08.2023; accepted for publication on 04.09.2023.