

УДК 634.1:631.52

DOI 10.30679/2219-5335-2022-4-76-1-13

**ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО
РАЗНООБРАЗИЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ
РОДА *MALUS* MILL.
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-АНАЛИЗА
И СТАТИСТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ***

Щеглов Сергей Николаевич¹
д-р биол. наук
заместитель декана
биологического факультете по НИР
профессор кафедры генетики,
микробиологии и биохимии

Ульяновская Елена Владимировна²
д-р с.-х. наук
зав. лабораторией сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: ulyanovskaya_e@mail.ru

Токмаков Сергей Вячеславович²
канд. биол. наук
научный сотрудник
лаборатории селекционно-
биотехнологической
e-mail: ad-a-m@mail.ru

Чернуцкая Евгения Анатольевна²
аспирант, младший научный сотрудник
лабораторией сортоизучения
и селекции садовых культур

Балапанов Ильнур Маликович²
младший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: i-balapanov@rambler.ru

¹*Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Кубанский государственный
университет», Краснодар, Россия*

UDC 634.1:631.52

DOI 10.30679/2219-5335-2022-4-76-1-13

**ASSESSMENT OF THE GENETIC
DIVERSITY OF REPRESENTATIVES
OF THE GENUS *MALUS* MILL.
USING DNA ANALYSIS
AND STATISTICAL METHODS***

Shcheglov Sergey Nikolayevich¹
Dr. Sci. Biol.
Deputy Dean of the Faculty of Biology
for research work
Professor of Genetic, Microbiology
and Biochemistry Faculty

Ulyanovskaya Elena Vladimirovna²
Dr. Sci. Agr.
Head of Laboratory of Variety study
and Breeding of Garden crops
e-mail: ulyanovskaya_e@mail.ru

Tokmakov Sergey Vyacheslavovich²
Cand. Biol. Sci.
Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory
e-mail: ad-a-m@mail.ru

Chernutskaya Evgenia Anatolyevna²
Postgraduate, Junior Research Associate
of Laboratory of Variety study
and Breeding of Garden crops

Balapanov Ilnur Malikovich²
Junior Research Associate
of Variety studying
and Garden Crops Breeding Laboratory
e-mail: i-balapanov@rambler.ru

¹*Federal State Budgetary
Educational Institution
of Higher Education
«Kuban State University»,
Krasnodar, Russia*

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МФИ – 20.1/92.

* The study was carried out with financially supported of the Kuban Scientific Foundation within the framework of the scientific project № МФИ – 20.1/92.

²Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия

Исследования проводили согласно общепринятым и разработанным в ФГБНУ СКФНЦСВВ программам и методикам селекции и сортоизучения в центре коллективного пользования «Исследовательско-селекционная коллекция генетических ресурсов садовых культур» (ЦКП ИСК ГРСК). Объекты исследований – сорта и формы яблони (*Malus × domestica* Borkh.) разной ploидности и генетического происхождения. Цель исследования – оценка аллельного полиморфизма микросателлитных последовательностей генома коллекционных образцов рода *Malus* Mill. как исходного материала для дальнейшей селекции. Генотипирование 48 сортообразцов яблони (из них: 44 диплоида и 4 триплоида) генетической коллекции ФГБНУ СКФНЦСВВ проводили с использованием 12 SSR маркеров: CH04c07, GD12, CH03d07, CH02C09, CH01h10, GD96, CH04e05, GD100, Hi02c07, GD147, CH01f02, CH02c11. Установлены маркеры, обладающие: наибольшим числом аллелей – GD12 (18 аллелей); наименьшим числом аллелей – CH01h10 и Hi02c07 (10 аллелей); наибольшим числом эффективных аллелей – CH01f02 (9,018) и CH02c11 (9,366); наименьшим числом эффективных аллелей – CH01h10 (3,499). По индексу разнообразия выделены локусы CH01f02 и CH02c11, как обладающие наибольшим аллельным полиморфизмом. Выполнена группировка исследуемых 48 сортов яблони на основе результатов генотипирования по двум наиболее информативным маркерам (CH01a02 и CH02c11) и кластерного анализа. Наибольшая средняя длина аллелей (2480,40) у сортов, вошедших в третий кластер, далее – во второй кластер (1019,66), в четвертый кластер (819,65) и в первый кластер

²Federal State Budget Scientific Institution «North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making», Krasnodar, Russia

The studies were carried out in accordance with the programs and methods of breeding and variety study generally accepted and developed at the FSBSI NCFSCHVW in the Center for Collective Use «Research and Breeding Collection of Genetic Resources of Horticultural Crops» (CCU RBC GRHC). The objects of research are varieties and forms of apple trees (*Malus × domestica* Borkh.) of different ploidy and genetic origin. The aim of the study was to evaluate the allelic polymorphism of microsatellite sequences in the genome of collection specimens of the genus *Malus* Mill. as a starting material for further breeding. Genotyping of 48 apple varieties (of which: 44 diploids and 4 triploids) of the genetic collection of the FSBSI NCFSCHVW was carried out using 12 SSR markers: CH04c07, GD12, CH03d07, CH02C09, CH01h10, GD96, CH04e05, GD100, Hi02c07, GD147, CH01f02, CH02c11. Markers have been established that have: the largest number of alleles – GD12 (18 alleles); the smallest number of alleles – CH01h10 and Hi02c07 (10 alleles); the largest number of effective alleles – CH01f02 (9.018) and CH02c11 (9.366); the smallest number of effective alleles – CH01h10 (3.499). According to the diversity index, loci CH01f02 and CH02c11 were identified as having the highest allelic polymorphism. The grouping of the studied 48 apple varieties was performed based on the results of genotyping for the two most informative markers (CH01a02 and CH02c11) and cluster analysis. The highest average allele length (2480.40) is in the varieties included in the third cluster, then in the second cluster (1019.66), in the fourth cluster (819.65) and in the first cluster (603.28). 4 groups consisting

(603,28). Сформированы по средней длине аллелей 4 группы в составе 7, 3, 22 и 16 сортов соответственно. Полученные результаты анализа данной выборки сортов яблони важны для решения задач структурирования генофонда и дальнейших селекционных исследований.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, СОРТ, ГЕНОТИП, ДНК-МАРКИРОВАНИЕ, МАРКЕР, КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ

of 7, 3, 22 and 16 varieties, respectively, were formed according to the average length of alleles. The results of the analysis of this sample of apple varieties are important for solving the problems of structuring the gene pool and further breeding studies.

Key words: APPLE-TREE, GRADE, GENOTYPE, DNA-MARKING, MARKER, CLUSTER ANALYSIS

Введение. Мобилизация всего имеющегося у селекционера генетического разнообразия рода *Malus* Mill., использование комплекса методов фенотипической оценки, ДНК-маркерных и информационных технологий способствует интенсификации селекционного процесса, ускоренному созданию и выделению генресурсов для усиления признаков долговременной устойчивости к грибным патогенам (парше, мучнистой росе и др.), устойчивости к абиострессорам региона возделывания (засуха, морозы, весенние заморозки), улучшения потребительских качеств плодов яблони.

Поиск среди генетического разнообразия рода *Malus* Mill. новых источников высокой устойчивости к грибным патогенам и абиострессорам, а также улучшения и увеличения разнообразия потребительских качеств плодов позволяет в значительной мере повысить эффективность и результативность отечественной селекции в решении актуальных проблем и приоритетных задач. В селекции яблони, как и других многолетних плодовых растений, значимых для развития сельского хозяйства, метод отдаленной гибридизации стоит особенно выделить в качестве одного из основных для создания адаптивных сортов [1-4]. Кроме того, данный метод нередко позволяет значительно улучшить не только показатели устойчивости, адаптивности, но и продуктивности, биохимического состава и качества плодов у создаваемых генотипов [5-9]. Метод отдаленной гибридизации, особенно межвидовую гибридизацию, активно используют как в мире [10, 11], так и в России, в селекции важнейших садовых растений [12, 13], в том числе яблони [1, 14-17].

Комплексное использование в селекции плодовых растений, в том числе яблони, методов отдаленной межвидовой гибридизации и полиплоидии увеличивает вероятность получения разнообразного гибридного материала, позволяет получить различные варианты комбинирования ценных признаков и значимых показателей у создаваемых новых форм для дальнейшей селекции и производства [18-22].

Среди используемых в селекции плодовых культур, в том числе яблони, молекулярно-генетических методов достаточно распространено применение ДНК-маркеров, основанных на полиморфизме микросателлитных последовательностей генома (SSR). Актуальна проблема все более активного селекционного использования имеющегося биоразнообразия культуры яблони, в том числе: местных и стародавних сортов, полукультурных форм, сложных межвидовых гибридов и полиплоидов, а также новых сортов и гибридов на их основе для создания высококачественных и адаптивных отечественных сортов [23-27]. В настоящее время перспективно для изучения генетического разнообразия и паспортизации сортов многолетних плодовых растений, в том числе яблони, идентификации сортов, выявления внутривидовых связей, подтверждения и выявления родословной использование эффективного комплекса SSR-маркеров [2, 12, 13].

Цель исследования – оценка аллельного полиморфизма микросателлитных последовательностей генома коллекционных образцов рода *Malus* Mill. как исходного материала для дальнейшей селекции.

Объекты и методы исследований. Объекты исследований – 48 сортов и форм яблони (*Malus × domestica* Borkh.) разной плоидности и генетического происхождения. Сады 2000-2019 гг. посадки; подвой М9, схемы посадки: 5 × 2; 5 × 1,5 м. Исследования проводили в СКФНЦСВВ; в центре коллективного пользования «Исследовательско-селекционная коллекция генетических ресурсов садовых культур» (ЦКП ИСК ГРСК). В рабо-

те использованы селекционные программы и методики: «Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года» [12]; «Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве» [2]; «Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [28]; «Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [29]. Для приготовления препарата ДНК из молодых листьев использовался СТАВ-метод [30]. Генотипирование проводили с использованием 12 SSR маркеров: CH04c07, GD12, CH03d07, CH02C09, CH01h10, GD96, CH04e05, GD100, Hi02c07, GD147, CH01f02, CH02c11. Информация получена на основе фрагментного анализа на автоматическом генетическом анализаторе ABI prism 3130.

Обсуждение результатов. Для генотипирования были взяты 48 сортообразцов яблони генетической коллекции ФГБНУ СКФНЦСВВ различного эколого-географического происхождения, как ценный исходный материал для селекции, в том числе сорта и формы различного происхождения из России (14 образцов), США (11), Европы (11), Беларуси (1), Украины (1), Канады (1), Австралии (1), Новой Зеландии (1), Японии (1) и неизвестного происхождения (5). Среди изученных генотипов яблони – 44 диплоида и 4 триплоида. Выполненное генотипирование 48 сортов яблони различного происхождения и плоидности с использованием 12 SSR маркеров, позволило установить ряд параметров, отражающих полиморфизм задействованных микросателлитных локусов в рамках исследуемой выборки (табл.).

Число уникальных аллелей в зависимости от маркера варьировало в диапазоне 10-18, со средним значением 13,167 аллелей на локус. Установлен маркер, обладающий наибольшим числом аллелей в данной выборке ортов, – GD12 (18 аллелей), в свою очередь наименьшее количество аллелей

было характерно для двух SSR маркеров CH01h10 и Hi02c07 (10 аллелей). Таким образом, исходя из количества установленных аллелей по каждому из использованных маркеров, можно судить о значительном аллельном разнообразии микросателлитных локусов у отобранных сортов яблони.

Характеристики SSR маркеров,
задействованных в генотипировании 48 сортов яблони

Маркеры	Na	Ne	I	Ho	He	F
CH04c07	12	6,727	2,126	0,875	0,851	-0,028
GD12	18	4,299	2,057	0,667	0,767	0,131
CH03d07	13	8,694	2,298	0,792	0,885	0,105
CH02C09	11	7,257	2,102	0,563	0,862	0,348
CH01h10	10	3,499	1,630	0,688	0,714	0,037
GD96	14	8,440	2,303	0,854	0,882	0,031
CH04e05	14	4,035	1,920	0,792	0,752	-0,053
GD100	13	6,087	2,115	0,396	0,836	0,526
Hi02c07	10	5,080	1,825	0,563	0,803	0,300
GD147	11	5,592	1,964	0,833	0,821	-0,015
CH01f02	17	9,018	2,397	0,896	0,889	-0,008
CH02c11	15	9,366	2,409	0,854	0,893	0,044
Ср. зн.	13,167	6,508	2,095	0,731	0,830	0,118

Примечание: Na – Число аллелей; Ne – Число эффективных аллелей ($1/(\sum p_i^2)$);
I – Индекс разнообразия Шеннона ($-1 \cdot \sum (p_i \cdot \ln(p_i))$); Ho – Наблюдаемая гетерозиготность (No. of Hets/N);
He – Ожидаемая гетерозиготность ($1 - \sum p_i^2$); F – Индекс фиксации $((He - Ho)/He = (1 - (Ho/He))$)

Число эффективных аллелей позволяет оценить аллельный полиморфизм с учётом частот встречаемости каждой аллели у исследуемых генотипов. Наибольшее число эффективных аллелей установлено у маркеров CH01f02 и CH02c11, соответственно 9,018 и 9,366. Наименьшим числом эффективных аллелей обладал маркер CH01h10 (3,499).

По индексу разнообразия также были выделены локусы CH01f02 и CH02c11, как обладающие наибольшим аллельным полиморфизмом. Наблюдаемая гетерозиготность, отражающая количество гетерозигот относительно общего числа генотипов, варьировала в пределах от 0,896 (CH01f02) до 0,396 (GD100). В свою очередь, ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по формуле $(1 - \sum p_i^2)$, где p_i – частота встречаемости ал-

лели микросателлитного локуса. Крайние значения ожидаемой гетерозиготности были равны 0,893 для маркера СН02с11 и 0,714 для маркера СН01h10.

Индекс фиксации в среднем по всем маркерам имел низкое положительное значение (0,118), что свидетельствует о высокой доле панмиктичности генофонда, послужившего основанием для создания исследуемого набора сортов яблони.

В целом, основываясь на результатах генотипирования, можно утверждать, что задействованные в работе маркеры могут быть эффективно использованы для генетического анализа сортов яблони.

В дальнейшем была выполнена группировка сортов с помощью кластерного анализа (рис. 1). За основу были взяты данные по выявленным длинам аллелей маркеров СН01а02 и СН02с11 у 48 исследуемых сортов яблони. Выбор данных маркеров обусловлен наибольшим числом эффективных аллелей N_e (9,018 и 9,366, соответственно).

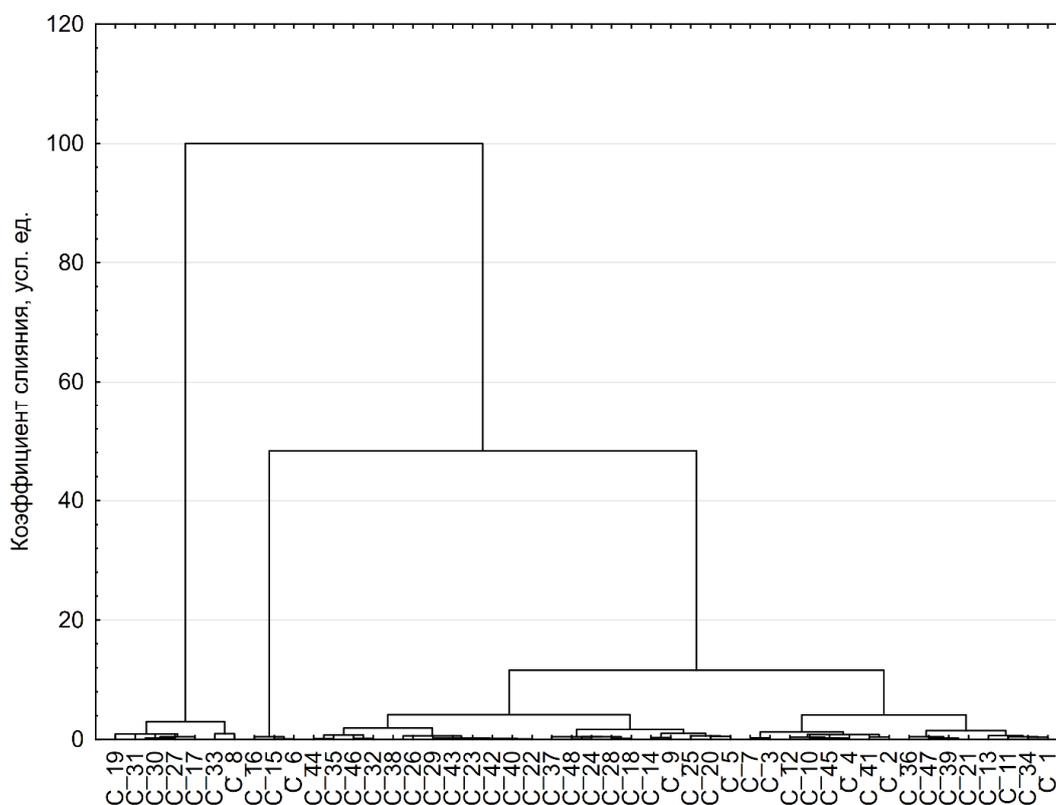


Рис. 1. Результаты кластерного анализа сортов яблони

На рисунке 1 видно, что на уровне слияния 4 усл. ед. выделяются 4 группы в составе 7, 3, 22 и 16 сортов соответственно:

- 1) Марго, Хоней Крисп, Фери, Камео, Арива, Империял Павла, 2-66-10;
- 2) Вирджиния, Виктория, Рислинг красный;
- 3) Кетни, Желто-зеленое, Эксельзиор, Китайка малиновая, Транс Люценс, Долго, Флорина, Амулет, Пинк Леди, Персиковое, Пирос, Либерти, Гала, Топаз, Элиза, Лигол, Айдаред, Джин, Экзотика, Веста, Чемпион, Фортуна;
- 4) Темно-вишневое, Никита, Спартак, Розовое облачко, Азимут, Джон Дауни, Память есаулу, Гертруда, Женева Эрли, Юнона, Ренет Симиренко, Голден Делишес, Пиотош, Желто-румяное, Джонаголд Принц, Китайка № 3.

Различия выделенных групп хорошо иллюстрирует показатель средней длины аллелей в каждой группе (рис. 2). Как показано на рисунке 2, наибольшей средней длиной аллелей (2480,40) обладают сорта, вошедшие в третий кластер, далее – во второй кластер (1019,66), в четвертый кластер (819,65) и в первый кластер (603,28).

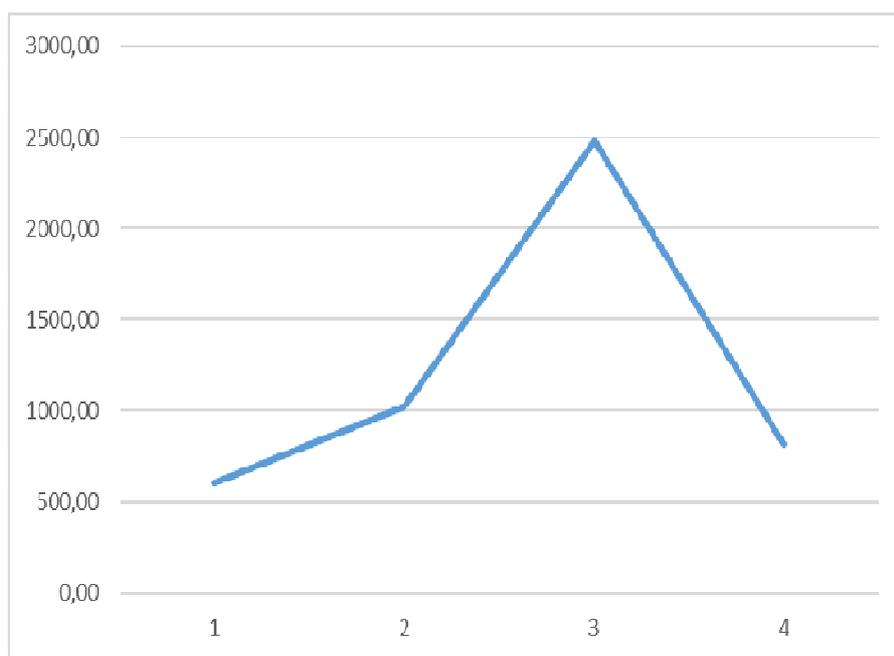


Рис. 2. Средняя длина аллелей в выделенных группах сортов

Использование данных по двум наиболее информативным маркерам позволило объединить исследуемые сорта яблони в четыре группы по средней длине аллелей. Примечательно, что во вторую группу вошли только кребы – мелкоплодные яблони сложного межвидового происхождения. В первую группу, наряду с кребами, вошли сорта отечественной (Марго) и зарубежной селекции (Хоней Крисп, Камео, Арива), имеющие в своей родословной сорт Голден Делишес. В третью группу выделены близкородственные сорта: Айдаред, а также Джин и Экзотика, у которых Айдаред является материнской формой. Кроме того, в третью группу включены сорта, имеющие сложное межвидовое происхождение, полученные методом отдаленной гибридизации или комплексом методов полиплоидии и отдаленной гибридизации, а также сорта Лигол и Персиковое, имеющие в своей родословной старинные сорта: Феймез (синоним Снежное (Fameuse, Snow apple)), Вагнер (синонимы: Вагнера призовое, Вагнера премированное (Wagener, Wagenerapfel, Wagener price apple, Wagener's Preisapfel)), а также Кальвиль снежный (считается сортом народной селекции, синонимы: Белоснежное, Белоснежный кальвиль (Calville neige, Schnee-Calvill)).

Таким образом, полученные результаты кластерного анализа позволили выделить группы сортов яблони наибольшего генетического сходства и в основном подтверждают имеющиеся данные о происхождении исследуемых генотипов. В последующем, с учетом общих особенностей сортов по выделенным группам, полученные результаты анализа данной выборки можно будет использовать для дальнейшей маркерной селекции. Кроме того, для уточнения группировки сортов можно применять различные варианты сочетания маркеров.

Выводы. По результатам исследования выявлено, что все 12 SSR маркеров могут быть эффективно использованы для генетического анализа сортов яблони. Установлено наибольшее число эффективных аллелей у марке-

ров SN01f02 (9,018) и SN02c11 (9,366); наименьшее число – у маркера SN01h10 (3,499). Выделены по индексу разнообразия локусы SN01f02 и SN02c11 с наибольшим аллельным полиморфизмом. На основе метода кластерного анализа и результатов генотипирования по двум наиболее информативным маркерам SN01a02 и SN02c11 выполнена группировка сортов яблони, выделено четыре группы по средней длине аллелей. Установлено, что наибольшая средняя длина аллелей (2480,40) у сортов яблони, включенных в третий кластер, большинство которых имеют сложное межвидовое происхождение или стародавние сорта в своей родословной.

Полученные данные об аллельных вариантах микросателлитных локусов сортов яблони позволят структурировать коллекционный материал, вести пополнение, поиск и осуществлять хранение информации для решения задач по идентификации генотипов, уточнения происхождения сортов, определении сортовой чистоты. В дальнейшем полученные результаты анализа данной выборки сортов можно будет использовать для маркерной селекции с последующими уточнениями по применению различных вариантов сочетаний маркеров.

Литература

1. Седов Е.Н. Селекция и новые сорта яблони. Орел: ВНИИСПК, 2011. 624 с.
2. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве / Е.А. Егоров [и др.]. Краснодар, 2012. 569 с.
3. Durel C.E. Genetic dissection of partial resistance to race 6 of *Venturia inaequalis* in apple // Durel C.E., Parisi L., Laurens F., Van de Weg W.E., Leirbherd R., Jourjon V.F. // *Genome*. – 2003. – V. 46 (2). – P. 224-234.
4. Bus V.G.M. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus* / *Annual Review of Phytopathology*. – 2011. – V. 49. – P. 391-413.
5. Paweł Górnaś, Dalija Segliņa, Gunārs Lācis, Iveta Pugajeva Dessert and crab apple seeds as a promising and rich source of all four homologues of tocopherol (α , β , γ and δ) // *LWT - Food Science and Technology*. – 2014. – V. 59. – P. 211-214.
6. Paweł Górnaś, Inga Mišina, Anita Olšteine, Inta Krasnova, Dalija Segliņa Phenolic compounds in different fruit parts of crab apple: Dihydrochalcones as promising quality markers of industrial apple pomace by-products // *Industrial Crops and Products*. – 2015. – V. 7415. – P. 607-612.
7. Chen X. S. et al. Genetic variation of F1 population between *Malus sieversii* f. *neidzwetzkyana* and apple varieties and evaluation on fruit characters of functional apple excellent strains // *Sci. Agric. Sin.* – 2014. – V. 47. – P. 2193-2204.

8. Matsumoto Shogo, Tianzhong Li, Otagaki Shungo, Yang Li, Songling Bai Efficient Breeding and Cultivation of Type 2 Red-fleshed Apple Cultivars Using a Search System for Suitable Apple Cultivar Combination // Horticultural Plant Journal. – 2018. – V. 4, Issue 6, P. 219-225.

9. Привалов А.А., Папихин Р.В., Григорьева Е.В. Роль межвидовой гибридизации в селекции яблони // Наука и Образование. 2022. Т. 5. № 1.

10. Chundong N., Haiyan L., Lijuan J., Mingjia Y., Cuiying L., Dali G., Yinpeng X., Yan Y., Xiaoxia S., Pengxiang C., Jun D., Fengwang M., Qingmei G., Genome-wide identification of drought-responsive microRNAs in two sets of *Malus* from interspecific hybrid progenies // Horticulture Research. – 2019. – V. 6. – № 75. – P. 1-18.

11. Brite E.B. The origins of the apple in central Asia // Journal of World Prehistory. – 2021. – V. 34. – № 2. – С. 159-193.

12. Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года. – Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. – 202 с.

13. Еремин Г.В., Заремук Р.Ш., Супрун И.И., Ульяновская Е.В. Ускорение и повышение эффективности селекции плодовых культур. Краснодар, 2010. 55 с.

14. Fischer C., Richter K. Results on fire blight resistance breeding of the Pillnits apple breeding programme // Erwerbsobstbau, 1999. – V. 41(2). – P. 56-60.

15. Fischer C., Schreiber H., Buttner R., Fischer M. Testing scab-resistance stability of new resistant cultivars within the apple breeding program // Acta Horticulturae. – 1999. – V. 484. – P. 449-454.

16. Janick J. History of the PRI apple breeding program // Acta Horticulturae. – 2002. – V. 595. – P. 55-60.

17. Roya Choupannejad, Bahram Sharifnabi, Masoud Bahar, Majid Talebi Searching for resistance genes to *Venturia inaequalis* in wild and domestic apples in Iran // Scientia Horticulturae. – 2018. – V. 23217. P. 107-111.

18. Седов Е.Н., Седышева Г.А., Серова З.М. Селекция яблони на полиплоидном уровне. Орел: ВНИИСПК, 2008. 367 с.

19. Sedov, E.N. Apple breeding programs and methods, their development and improvement // Russ J Genet Appl Res.– 2014. – № 4. – P. 43–51.

20. Ulyanovskaya E.V., Belenko E.A. Using the genetic diversity of the *Malus* genus to solve the priority areas of breeding // BIO Web of Conferences. 2020. № 25. P. 02001.

21. Podwyszyńska M., Marasek-Ciołakowska A. Ploidy, genome size, and cytogenetics of apple // The Apple Genome. – Springer, Cham, 2021. – С. 47-71.

22. Инновации в изменении генома яблони. Новые перспективы в селекции / Седов Е.Н. [и др.]. Орел: ВНИИСПК, 2015. 336 с

23. 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, 2005. – V. 15. – P. 103-116.

24. Keulemans J. Genetic Diversity, Ploudy and Apomixis in Putative Qbince (*Cydonia oblonga*) × Apple (*Malus domestica*) Hybrids // 28th Internat. Hort. Congr. – Lisbon, 2010. – V. 1. – P. 202.

25. Егоров Е.А., Шадрина Ж.А., Кочьян Г.А., Путилина И.Н. Актуальные направления повышения эффективности промышленного пловодства // Селекция и сорторазведение садовых культур, 2018. Т. 5. № 1. С. 28-32.

26. Барсукова О.Н. Состав коллекции дикорастущих видов яблони и перспективы использования ее в селекции // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2018. Т. 179. № 3. С. 95-103.
27. Сорта яблони народной селекции как исходные формы при создании конкурентоспособных, адаптивных сортов / Е.Н. Седов [и др.] // Аграрная наука. 2022. № 1. С. 106-109.
28. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1995. 503 с.
29. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1999. 606 с.
30. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic acids research. – 1980. – V. 8. – №. 19. – P. 4321-4326.

References

1. Sedov E.N. Selekcija i novye sorta yabloni. Orel: VNIISPK, 2011. 624 s.
2. Sovremennye metodologicheskie aspekty organizacii selekcionnogo processa v sadovodstve i vinogradarstve / E.A. Egorov [i dr.]. Krasnodar, 2012. 569 s.
3. Durel C.E. Genetic dissection of partial resistance to race 6 of *Venturia inaequalis* in apple // Durel C.E., Parisi L., Laurens F., Van de Weg W.E., Leirberd R., Jourjon V.F. // Genome. – 2003. – V. 46 (2). – P. 224-234.
4. Bus V.G.M. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus* / Annual Review of Phytopathology. – 2011. – V. 49. – P. 391-413.
5. Paweł Górnaś, Dalija Segliņa, Gunārs Lācis, Iveta Pugajeva Dessert and crab apple seeds as a promising and rich source of all four homologues of tocopherol (α , β , γ and δ) // LWT - Food Science and Technology. – 2014. – V. 59. – P. 211-214.
6. Paweł Górnaś, Inga Mišina, Anita Olšteine, Inta Krasnova, Dalija Segliņa Phenolic compounds in different fruit parts of crab apple: Dihydrochalcones as promising quality markers of industrial apple pomace by-products // Industrial Crops and Products. – 2015. – V. 7415. – P. 607-612.
7. Chen X. S. et al. Genetic variation of F1 population between *Malus sieversii* f. *neidzwetzkyana* and apple varieties and evaluation on fruit characters of functional apple excellent strains // Sci. Agric. Sin. – 2014. – V. 47. – P. 2193-2204.
8. Matsumoto Shogo, Tianzhong Li, Otagaki Shungo, Yang Li, Songling Bai Efficient Breeding and Cultivation of Type 2 Red-fleshed Apple Cultivars Using a Search System for Suitable Apple Cultivar Combination // Horticultural Plant Journal. – 2018. – V. 4, Issue 6, P. 219-225.
9. Privalov A.A., Papihin R.V., Grigor'eva E.V. Rol' mezhvidovoj gibridizacii v selekcii yabloni // Nauka i Obrazovanie. 2022. T. 5. №. 1.
10. Chundong N., Haiyan L., Lijuan J., Mingjia Y., Cuiying L., Dali G., Yinpeng X., Yan Y., Xiaoxia S., Pengxiang C., Jun D., Fengwang M., Qingmei G., Genome-wide identification of drought-responsive microRNAs in two sets of *Malus* from interspecific hybrid progenies // Horticulture Research. – 2019. – V. 6. – № 75. – R. 1-18.
11. Brite E.B. The origins of the apple in central Asia // Journal of World Prehistory. – 2021. – V. 34. – №. 2. – S. 159-193.
12. Programma Severo-Kavkazskogo centra po selekcii plodovyh, yagodnyh, cvetochno-dekorativnyh kul'tur i vinograda na period do 2030 goda. – Krasnodar: SKZNIISiV, 2013. – 202 s.
13. Eremin G.V., Zaremuk R.Sh., Suprun I.I., Ul'yanovskaya E.V. Uskorenie i povyshenie effektivnosti selekcii plodovyh kul'tur. Krasnodar, 2010. 55 s.

14. Fischer C., Richter K. Results on fire blight resistance breeding of the Pillnitz apple breeding programme / *Erwerbsobstbau*, 1999. – V. 41(2). – P. 56-60.
15. Fischer C., Schreiber H., Buttner R., Fischer M. Testing scab-resistance stability of new resistant cultivars within the apple breeding program // *Acta Horticulturae*. – 1999. – V. 484. – P. 449-454.
16. Janick J. History of the PRI apple breeding program // *Acta Horticulturae*. – 2002. – V. 595. – P. 55-60.
17. Roya Choupannejad, Bahram Sharifnabi, Masoud Bahar, Majid Talebi Searching for resistance genes to *Venturia inaequalis* in wild and domestic apples in Iran // *Scientia Horticulturae*. – 2018. – V. 23217. P. 107-111.
18. Sedov E.N., Sedysheva G.A., Serova Z.M. *Selekciya yabloni na poliploidnom urovne*. Orel: VNIISPK, 2008. 367 s.
19. Sedov, E.N. Apple breeding programs and methods, their development and improvement // *Russ J Genet Appl Res.* – 2014. – № 4. – R. 43–51.
20. Ulyanovskaya E.V., Belenko E.A. Using the genetic diversity of the *Malus* genus to solve the priority areas of breeding // *BIO Web of Conferences*. 2020. № 25. R. 02001.
21. Podwyszyńska M., Marasek-Ciołakowska A. Ploidy, genome size, and cytogenetics of apple // *The Apple Genome*. – Springer, Cham, 2021. – S. 47-71.
22. *Innovacii v izmenenii genoma yabloni. Novye perspektivy v selekcii* / Sedov E.N. [i dr.]. Orel: VNIISPK, 2015. 336 s
23. 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*, 2005. – V. 15. – P. 103-116.
24. Keulemans J. Genetic Diversity, Ploudy and Apomixis in Putative Qbince (*Cydonia oblonga*) × Apple (*Malus domestica*) Hybrids // 28th Internat. Hort. Congr. – Lisbon, 2010. – V. 1. – P. 202.
25. Egorov E.A., Shadrina Zh.A., Koch'yan G.A., Putilina I.N. Aktual'nye napravleniya povysheniya effektivnosti promyshlennogo plodovodstva // *Selekciya i sortorazvedenie sadovyh kul'tur*, 2018. T. 5. № 1. S. 28-32.
26. Barsukova O.N. Sostav kollekcii dikorastushchih vidov yabloni i perspektivy ispol'zovaniya ee v selekcii // *Trudy po prikladnoj botanike, genetike i selekcii*. 2018. T. 179. № 3. S. 95-103.
27. Sorta yabloni narodnoj selekcii kak iskhodnye formy pri sozdanii konkurentosposobnyh, adaptivnyh sortov / E.N. Sedov [i dr.] // *Agrarnaya nauka*. 2022. № 1. S. 106-109.
28. *Programma i metodika selekcii plodovyh, yagodnyh i orekhoplodnyh kul'tur*. Orel, 1995. 503 s.
29. *Programma i metodika sortoizucheniya plodovyh, yagodnyh i orekhoplodnyh kul'tur*. Orel, 1999. 606 s.
30. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic acids research*. – 1980. – V. 8. – №. 19. – R. 4321-4326.