

УДК 634.1:631.52

DOI 10.30679/2219-5335-2023-4-82-1-11

**МАРКЕРНЫЙ ОТБОР
ГОМОЗИГОТНЫХ ПО ГЕНУ *RVI6*
УСТОЙЧИВОСТИ К *VENTURIA*
INAEQUALIS (СООКЕ) WINT.
ГИБРИДНЫХ ФОРМ
ЯБЛОНИ***

Ульяновская Елена Владимировна
д-р с.-х. наук
заведующая лабораторией сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: ulyanovskaya_e@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3987-7363>

Чернуцкая Евгения Анатольевна
аспирант
младший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: ev.belenko95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5140-9891>

Балапанов Ильнур Маликович
младший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: i-balapanov@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0727-3605>

Степанов Илья Владимирович
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: ivstepanof@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

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

Для решения современных задач селекции
яблони приоритетны исследования,
направленные на мобилизацию биоресурсов
рода *Malus* Mill., в том числе с использованием

UDC 634.1:631.52

DOI 10.30679/2219-5335-2023-4-82-1-11

**MARKER SELECTION
OF HYBRID FORMS OF APPLE
TREE HOMOZYGOUS
BY GENE *RVI6* OF RESISTANCE
TO *VENTURIA INAEQUALIS*
(COOKE) WINT.***

Ulyanovskaya Elena Vladimirovna
Dr. Sci. Agr.
Head of the Laboratory of Variety Study
and Breeding of Horticultural Crops
e-mail: ulyanovskaya_e@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3987-7363>

Chernutskaya Evgenia Anatolyevna
Postgraduate
Junior Research Associate
of Variety study and Breeding
of Garden crops Laboratory
e-mail: ev.belenko95@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-5140-9891>

Balapanov Ilnur Malikovich
Junior Research Associate
of Variety study and Breeding
of Garden crops Laboratory
e-mail: i-balapanov@rambler.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0727-3605>

Stepanov Ilya Vladimirovich
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnological
Laboratory
e-mail: ivstepanof@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6251-300X>

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

To solve modern problems of apple tree
breeding, research aimed at mobilizing
bioresources of the genus *Malus* Mill.
including using a complex of methods

* Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда и Кубанского научного фонда № 22-26-20101, <https://rscf.ru/project/22-26-20101/>

* The research was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation and Kuban science Foundation № 22-26-20101, <https://rscf.ru/project/22-26-20101/>

комплекса методов фенотипической оценки и ДНК-анализа для выявления новых высокоценных доноров значимых признаков для оптимизации ряда важнейших этапов селекционного процесса. Объекты исследования – 22 гибридные формы яблони (*Malus × domestica* Borkh.) различного генетического происхождения. Гибридные насаждения яблони корнесобственные 2017 года посадки, расположены в АО ОПХ «Центральное» (Краснодар). В качестве контроля наличия гена *Rvi6* использован стандартный дифференциатор – Priscilla, а также сорта яблони коллекции СКФНЦСВВ: Союз, Орфей, Florina. НИР проводили в СКФНЦСВВ, использованы Центр коллективного пользования высокотехнологичным оборудованием и Центр коллективного пользования биорастительными ресурсами. Цель исследования – выделение гомозиготных форм по гену *Rvi6* устойчивости к *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. среди гибридного материала яблони для дальнейшего селекционного использования. Используются программы и методики селекции и сортоизучения. Применен метод ПЦР-анализа для идентификации наличия гомозиготности по доминантному аллелю гена *Rvi6* с использованием кодоминантного маркера AL07 у 22 новых гибридов, полученных от родительских форм, несущих ген *Rvi6* в гетерозиготе: Кармен, Liberty, Gemeni, Renuartsiv, Modi, Fujion, 12/1-21-63, 2034. По результатам ДНК-анализа установлено, что 4 из 22 изученных образцов гомозиготны по доминантному аллелю гена *Rvi6*; 10 – гетерозиготны. Выявлены ценные для селекции гомозиготы по гену устойчивости к парше *Rvi6*: 17/1-6-66, 17/2-6-4 (из семьи 12/1-21-63 × Modi); 17/2-5-19, 17/2-5-20 (Кармен × Modi). Результаты исследования могут быть использованы для планирования схем опыления при гибридизации, пополнения идентифицированных коллекций новыми донорами, структурирования генофонда, дополнения и развития информационных баз данных для использования в селекционной работе и в производстве.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, СОРТ, ГЕНОТИП, ГЕН, ДНК-МАРКИРОВАНИЕ, УСТОЙЧИВОСТЬ, ПАРША

of phenotypic assessment and DNA analysis to identify new high-value donors of significant traits to optimize a number of important stages of the breeding process. The objects of study are 22 hybrid forms of apple trees (*Malus × domestica* Borkh.) of different genetic origin. Hybrid own-root plantations of apple trees, planted in 2017, are located in Experimental Production Farming "Centralnoye" (Krasnodar). A standard differentiator, Priscilla, was used as a control for the presence of the *Rvi6* gene, as well as apple tree varieties of the NCFSCHVW collection: Soyuz, Orfey, Florina. Research work was carried out at NCFSCHVW, using the Center for collective use of high-tech equipment and the Center for collective use of bioplant resources. The aim of the study was to isolate homozygous forms for the *Rvi6* gene of resistance to *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. among the hybrid material of the apple tree for further breeding use. The programs and methods of selection and variety study were used. The method of PCR analysis was applied to identify the presence of homozygosity for the dominant allele of the *Rvi6* gene using the codominant marker AL07 in 22 new hybrids obtained from parental forms, carrying the *Rvi6* gene in a heterozygote: Carmen, Liberty, Gemeni, Renuartsiv, Modi, Fujion, 12/1-21-63, 2034. According to the results of DNA analysis, it was found that 4 out of 22 studied samples were homozygous for the dominant allele of the *Rvi6* gene; 10 – heterozygous. Valuable for breeding homozygotes for the scab resistance gene *Rvi6*: 17/1-6-66, 17/2-6-4 (from the family 12/1-21-63 × Modi); 17/2-5-19, 17/2-5-20 (Carmen × Modi). The results of the study can be used to plan pollination schemes during hybridization, replenish the identified collections with new donors, structure the gene pool, supplement and develop information databases for use in breeding work and in production.

Key words: APPLE-TREE, VARIETY, GENOTYPE, GEN, DNA-MARKING, RESISTANCE, SCAB

Введение. Инновационные задачи сохранения, мобилизации и структуризации биоресурсов генетических коллекций рода *Malus* Mill., целенаправленного селекционного применения значительного генетического потенциала культуры яблони обусловлены необходимостью использования современных методов ДНК-маркирования для выявления новых эффективных доноров, существенно сокращающих этапы селекционного процесса. Научно-обоснованный отбор с использованием ДНК-анализа исходных родительских форм яблони важен для успеха выполнения современных селекционных программ [1-3].

Современная стратегия достижения длительной и долговременной устойчивости к основному грибному заболеванию яблони – *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. основана на усилении селекционных технологий путем широкого применения маркерного отбора. Активное использование методов ДНК-анализа для изучения биоразнообразия культуры позволяет планировать и получать ценный генетический материал, проводить пирамидирование генов ценных хозяйственных свойств, повышая эффективность, значимость и скорость селекционного процесса [4, 5]. Маркеропосредованный отбор необходим для превентивной селекции яблони на долговременную устойчивость к грибным патогенам, в частности к парше, позволяет вести поиск носителей нескольких целевых генов устойчивости [6, 7], а также гомозигот по гену *Rvi6*, которые по данным многих исследователей обладают более стабильной устойчивостью к парше [8, 9]. Цель исследования – выделение гомозиготных форм по гену *Rvi6* устойчивости к *Venturia inaequalis* (Cooke) Wint. среди гибридного материала яблони для дальнейшего селекционного использования.

Объекты и методы исследований. В качестве объектов исследования были использованы 22 гибридные формы яблони (*Malus* × *domestica* Borkh.) различного генетического происхождения. Гибридные насаждения яблони корнесобственные 2017 года посадки. В качестве контроля наличия

гена *Rvi6* использовали стандартный дифференциатор – сорт Priscilla, а также идентифицированные ранее по наличию данного гена сорта яблони коллекции ФГБНУ СКФНЦСВВ – носители данного гена: Союз, Орфей, Florina. НИР проводили в СКФНЦСВВ, в Центре коллективного пользования биорастительными ресурсами.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда и Кубанского научного фонда № 22-26-20101, <https://rscf.ru/project/22-26-20101/>. В работе использованы селекционные программы и методики: «Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года» [10]; «Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве» [11]; «Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [12]. Применяли СТАВ-метод для приготовления из листьев растений яблони (в конце апреля – мае месяце) препарата ДНК [13]. Идентификацию гена устойчивости к парше *Rvi6* осуществляли с использованием кодоминантного маркера AL-07. Фрагмент ПЦР размером 724 п.н. (пар нуклеотидов) связан с рецессивным аллелем гена *Rvi6*, доминантная аллель гена *Rvi6* представлена продуктом ПЦР размером 466 п.н. Амплификацию проводили с использованием амплификатора Eppendorf с условиями, описанными в статье разработчиков маркера [14]. Идентификацию продуктов осуществляли в 2 % агарозном геле.

Обсуждение результатов. В процессе селекции яблони на иммунитет к парше (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.) в ФГБНУ СКФНЦСВВ используют высококачественные сорта и формы различного эколого-географического и генетического происхождения, разной ploидности, подбирая родительские пары так, чтобы одна или обе исходные формы обладали иммунитетом к парше. Это увеличивает вероятность отбора среди получаемого гибридного потомства форм, сочетающих иммунитет к парше с улучшенным качеством плодов.

По многолетним данным фенотипирования по значимым хозяйственным показателям: слаборослость, тип кроны, скороплодность, полевая устойчивость к основным грибным заболеваниям был выделен наиболее перспективный гибридный материал собственной селекции, полученный от скрещивания родительских форм, каждая из которых – носитель гена *Rvi6* (табл. 1).

Таблица 1 – Генетическое происхождение нового селекционного материала яблони

Название генотипа	Генетическое происхождение	
	♀ (материнская форма)	♂ (отцовская форма)
17/1-6-1	Кармен	Gemeni
17/1-6-56	Liberty	Renuartsiv
17/1-6-58	Liberty	Renuartsiv
17/1-6-53	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-66	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-68	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-70	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-72	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-73	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/1-6-75	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/2-6-1	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/2-6-4	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/2-6-7	12/1-21-63 (Golden Delishes 4x × 2034 (F2 <i>M. floribunda</i> × Golden Delishes 4x))	Modi
17/2-6-8	12/1-21-24 (Idared × Balcgard 0247 E)	Arksharm
17/2-6-10	12/1-21-24 (Idared × Balcgard 0247 E)	Arksharm
17/2-6-13	Renuartsiv	Кармен
17/2-5-14	Renuartsiv	Кармен
17/2-5-15	Renuartsiv	Кармен
17/2-5-18	Modi	Кармен
17/2-5-19	Modi	Кармен
17/2-5-20	Modi	Кармен
17/1-7-17	12/1-20-56 (Black Stayman × Prima)	Fujion

Необходимо отметить наличие в родословной у большинства используемых нами родительских форм российского и зарубежного происхождения, как отцовских, так и материнских: Кармен, Liberty, Modi, Fujion, Prima, 12/1-21-63, 2034, высококачественного сорта Golden Delicious – общеизвестного в мире стандарта как по качественным показателям плодов, так и признанного высокоценного исходного родительского сорта в мировой селекционной практике [15].

Несмотря на то, что наиболее часто используемый в селекции яблони ген *Rvi6* устойчивости к парше, по мнению некоторых авторов, считается «иногда преодолеваемым» [16], получение гомозиготных сортов и форм на его основе перспективно, так как доминантная гомозиготность по искомому гену положительно влияет на стабильность устойчивости, усиливая ее [17-19]. Кроме того, использование гомозигот гена *Rvi6* в гибридизации позволяет передать ценный признак донора всему гибриднему потомству [8, 9].

Выполнена идентификация наличия гомозиготности по гену *Rvi6* с использованием ДНК-маркерного анализа у селекционно-ценных гибридов яблони, полученных от двух родительских форм, несущих ген *Rvi6* в гетерозиготе. На наличие гомозиготы по доминантному аллелю гена *Rvi6* с использованием кодоминантного маркера AL07 были протестированы 22 образца. Фрагмент ПЦР размером 724 п.н. (пар нуклеотидов) связан с рецессивным аллелем гена *Rvi6*, доминантная аллель гена *Rvi6* представлена на электрофореграмме продуктом ПЦР размером 466 п.н. (рис. 1).

По результатам ДНК-анализа установлено, что 4 из 22 изученных гибридов гомозиготны по доминантному аллелю гена *Rvi6*; 10 образцов – гетерозиготны (табл. 2).

Согласно полученным данным среди выделенного нового селекционного материала яблони, полученного от гибридизации современных сортов российской, североамериканской, западноевропейской и японской селекции, обладающих улучшенными качественными показателями плодов

выделены ценные гибридные формы – гомозиготы по гену устойчивости к парше *Rvi6*: 17/1-6-66, 17/2-6-4 (12/1-21-63 × Modi); 17/2-5-19, 17/2-5-20 (Кармен × Modi).

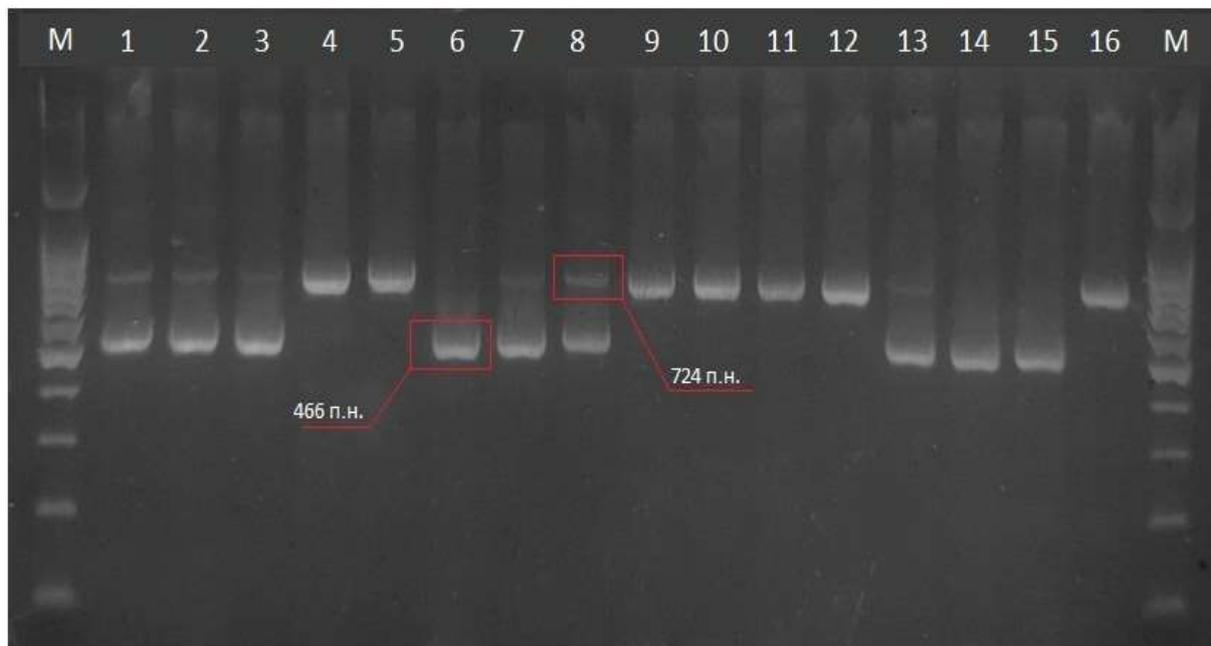


Рис. 1. Оценка гибридов яблони по доминантному аллелю гена *Rvi6* с использованием кодоминантного маркера AL07: №№ 1 – 16 гибридные формы из семей: №№ 1–9 – 12/1-21-63 × Modi; №№ 10–12 – Renuartsiv × Кармен; №№ 13–15 – Modi × Кармен; № 16 – 12/1-20-56 (Black Stayman × Prima) × Fujion

Таблица 2 – Результаты оценки образцов яблони на наличие гомозигот по доминантному аллелю гена *Rvi6* с использованием кодоминантного маркера AL07

Название гибрида	Наличие гена <i>Rvi6</i>	Название гибрида	Наличие гена <i>Rvi6</i>
17/1-6-1	+/-	17/2-6-4	+/+
17/1-6-56	+/-	17/2-6-7	+/-
17/1-6-58	+/-	17/2-6-8	+/-
17/1-6-53	+/-	17/2-6-10	-/-
17/1-6-66	+/+	17/2-6-13	-/-
17/1-6-68	-/-	17/2-5-14	-/-
17/1-6-70	+/-	17/2-5-15	-/-
17/1-6-72	+/-	17/2-5-18	+/-
17/1-6-73	+/-	17/2-5-19	+/+
17/1-6-75	-/-	17/2-5-20	+/+
17/2-6-1	-/-	17/1-7-17	-/-

Доминантная аллель обозначена «+», рецессивная аллель «-»

Использование ДНК-маркеров для идентификации гомозиготных форм гена *Rvi6* устойчивости к парше обладает неоспоримым преимуществом по скорости и точности получаемых результатов оценки образцов в сравнении с длительностью многолетней оценки и ее трудоемкости у плодовых растений по полученному в дальнейшем от анализируемых форм гибриднему потомству.

Выводы. Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что среди выделенных по данным фенотипирования 22 гибридных форм яблони, созданных с участием высококачественных современных сортов и форм российской, североамериканской, западноевропейской и японской селекции, большая часть (14 образцов или 63,6 %) – это носители гена *Rvi6* устойчивости к парше, в том числе 4 образца гомозиготны по доминантному аллелю искомого гена и 10 образцов – гетерозиготны.

Выделены перспективные для использования в селекции на долговременную устойчивость к парше гомозиготы по гену устойчивости к парше *Rvi6* – гибридные формы: 17/1-6-66, 17/2-6-4 (12/1-21-63 × Modi); 17/2-5-19, 17/2-5-20 (Кармен × Modi). Примечательно, что все гомозиготные генотипы получены с участием материнских исходных форм российской селекции и высококачественного итальянского сорта, используемого в качестве отцовской формы в каждой из выделенных гибридных семей.

Выделенные по данным ДНК-маркирования генотипы яблони могут быть рекомендованы как исходные родительские формы при выборе пар гибридизации для различных скрещиваний с целью получения 100 % выхода устойчивого к парше гибридного потомства.

Литература

1. Denardi F., Kvitschal M. V., Hawerth M.C. A brief history of the forty-five years of the Epagri apple breeding program in Brazil // Crop Breeding and Applied Biotechnology. 2019. Vol. 19. P. 347-355. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n3p47>.

2. Nicholas L.J.J., Howard P., Tillman J.R., Bedford D.S. Extended pedigrees of apple cultivars from the University of Minnesota breeding program elucidated using SNP array markers // HortScience. 2022. Vol. 57. № 3. P. 472-477. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16354-21>.

3. Luo F., Evans K., Norelli J.L., Zhang Z., Peace C. Prospects for achieving durable disease resistance with elite fruit quality in apple breeding // Tree Genetics & Genomes. 2020 Vol. 16. 21. <https://doi.org/10.1007/s11295-020-1414-x>.

4. Zelmene K., Kārklīņa K., Ikase L., Lācis G. Inheritance of Apple (*Malus* × *domestica* (L.) Borkh) Resistance against Apple Scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.) in Hybrid Breeding Material Obtained by Gene Pyramiding // Horticulturae. 2022. Vol. 8. № 9. 772. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8090772>.

5. Testolin R., Falginella L., De Carli A., De Mori G., Cipriani G. Pyramiding resistance genes and widening the genetic base of the apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) crop // Italus Hortus. 2021. Vol. 28. № 1. P. 32-43. <https://doi.org/10.26353/j.itahort/2021.1.3243>.

6. 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. Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/18/05/01.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14. EDN XYMNZB. (дата обращения: 07.06.2023).

7. Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Маркер-опосредованный скрининг иммунных к парше (*Rvi6*+*Rvi4*) генотипов яблони [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2021. № 67(1). С. 1-9. URL: <http://journal.kubansad.ru/pdf/21/01/01.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9. EDN YNUIXH. (дата обращения: 07.06.2023).

8. 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 Mol Biol. 2015. Vol. 33. P. 1573-1583. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0858-x>.

9. Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Полиморфизм сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020. Т. 181. № 1. С. 64-72. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-1-64-72>. EDN: OEWXVY.

10. Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. 202 с. ISBN 9725982720962. EDN: RROUGP.

11. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. 569 с. ISBN 978-5-98272-081-8. EDN: PYBRHP.

12. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1999. 606 с.

13. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic acids research. 1980. Vol. 8. № 19. P. 4321-4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>.

14. Mir S., Masoodi K.Z., Sakina A., Bhat K.M., Padder B.A., Murtaza I., Nazir N., Shikari A.B. Marker based screening of F1 (Firdous × Gala) mapping population for major scab resistance gene *Rvi6* in apple (*Malus* × *domestica*) // Int J Curr Microbiol App Sci. 2019. Vol. 8. P. 2641-2646. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.812.308>.

15. Дубравина И.В., Еремин Г.В. Голден Делишес как исходная форма в селекции яблоки // Плодоводство и ягодоводство России. 2011. Т. 28. № 1. С. 159-164. EDN NYNFAT

16. Patocchi A., Wehrli A., Dubuis P.H., et al. Ten years of VINQUEST: First insight for breeding new apple cultivars with durable apple scab resistance // Plant disease. 2020. Vol. 104. № 8. P. 2074-2081. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2473-SR>.

17. Gessler C., Patocchi A., Kellerhals M., Gianfranceschi L. Molecular marker applied to apple breeding and map-based cloning of resistance genes // IOBC/WPRS Bull. 1997. Vol. 20. P. 105-109.

18. Tartarini S., Sansavini S., Vinatzer B., Gennari F., Domizi C. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the *Vf* scab resistance gene // Acta Hort. 2000. Vol. 538. P. 549-552. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.538.96>.

19. Савельева Н.Н. Биологические и генетические особенности яблоки и селекция иммунных к парше и колонновидных сортов. Мичуринск: ФГБНУ «ВНИИС им. И.В. Мичурина», 2016. 280 с. ISBN 978-5-9906481-1-1. EDN: YMNQFE.

References

1. Denardi F., Kvitschal M. V., Hawerth M.C. A brief history of the forty-five years of the Epagri apple breeding program in Brazil // Crop Breeding and Applied Biotechnology. 2019. Vol. 19. P. 347-355. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n3p47>.

2. Nicholas L.J.J., Howard P., Tillman J.R., Bedford D.S. Extended pedigrees of apple cultivars from the University of Minnesota breeding program elucidated using SNP array markers // HortScience. 2022. Vol. 57. № 3. P. 472-477. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16354-21>.

3. Luo F., Evans K., Norelli J.L., Zhang Z., Peace C. Prospects for achieving durable disease resistance with elite fruit quality in apple breeding // Tree Genetics & Genomes. 2020. Vol. 16. 21. <https://doi.org/10.1007/s11295-020-1414-x>.

4. Zelmene K., Kārklīņa K., Ikase L., Lācis G. Inheritance of Apple (*Malus* × *domestica* (L.) Borkh) Resistance against Apple Scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.) in Hybrid Breeding Material Obtained by Gene Pyramiding // Horticulturae. 2022. Vol. 8. № 9. 772. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8090772>.

5. Testolin R., Falginella L., De Carli A., De Mori G., Cipriani G. Pyramiding resistance genes and widening the genetic base of the apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) crop // Italus Hortus. 2021. Vol. 28. № 1. P. 32-43. <https://doi.org/10.26353/j.itahort/2021.1.3243>.

6. Lyzhin A.S., Savelieva N.N. Identification of scab resistance genes in the apple varieties and hybrid forms with use of molecular markers [Electronic resource] // Fruit growing and viticulture of South Russia. 2018. № 53 (5). P. 1-14. Available at: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14>. EDN XYMNZB. (accessed date: 07.06.2023) (in Russian)

7. Lyzhin A.S., Savelyeva N.N. Marker-assisted screening of scab resistant (*Rvi6*+*Rvi4*) apple genotypes [Electronic resource] // Fruit growing and viticulture of South Russia. 2021. № 67 (1). P. 1-9. Available at: <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9>. EDN YNUIXH. (accessed date: 07.06.2023) (in Russian)

8. 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 Mol Biol. 2015. Vol. 33. P. 1573-1583. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0858-x>.

9. Lyzhin A.S., Savelieva N.N. Polymorphism of monogenic scab resistance loci in apple varieties // Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 2020. Vol. 181. № 1. P. 64-72. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-1-64-72>. EDN OEWXVY. (in Russian)

10. Program of the North Caucasian Center for the breeding of fruit, berry, flower and ornamental crops and grapes for the period up to 2030. Krasnodar: NCFSCHVW, 2013. 202 p. EDN: RROUGP. (in Russian)

11. Modern methodological aspects of breeding process in horticulture and viticulture. Krasnodar: NCFSCHVW, 2012. 569 p. EDN: PYBRHP. (in Russian)

12. Program and methods of variety study of fruit, berry and nut crops. Orel: VNIISPK, 1999. 606 p. (in Russian)

13. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic acids research. 1980. Vol. 8. № 19. P. 4321-4326. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>.

14. Mir S., Masoodi K.Z., Sakina A., Bhat K.M., Padder B.A., Murtaza I., Nazir N., Shikari A.B. Marker based screening of F1 (Firdous × Gala) mapping population for major scab resistance gene *Rvi6* in apple (*Malus × domestica*) // Int J Curr Microbiol App Sci. 2019. Vol. 8. P. 2641-2646. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.812.308>.

15. Dubravina I.V., Eremin G.V. Golden Delicious as an initial form in apple tree breeding // Pomiculture and small fruits culture in Russia. 2011. Vol. 28. № 1. P. 159-164. EDN NYNFAT. (in Russian)

16. Patocchi A., Wehrli A., Dubuis P.H., et al. Ten years of VINQUEST: First insight for breeding new apple cultivars with durable apple scab resistance // Plant disease. 2020. Vol. 104. № 8. P. 2074-2081. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2473-SR>.

17. Gessler C., Patocchi A., Kellerhals M., Gianfranceschi L. Molecular marker applied to apple breeding and map-based cloning of resistance genes // IOBC/WPRS Bull. 1997. Vol. 20. P. 105-109.

18. Tartarini S., Sansavini S., Vinatzer B., Gennari F., Domizi C. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the *Vf* scab resistance gene // Acta Hort. 2000. Vol. 538. P. 549-552. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2000.538.96>.

19. Savelyeva N.N. Biological and genetic features of the apple tree and selection of scab-immune and columnar varieties. Michurinsk: FGBNU «VNIIS named after I.V. Michurin», 2016. 280 p. ISBN 978-5-9906481-1-1. EDN YMNQFE. (in Russian)