

# Полиморфизм сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-64-72

УДК 634.11:631.523.11:632.4

Поступление/Received: 30.12.2019

Принято/Accepted: 11.03.2020



А. С. ЛЫЖИН\*, Н. Н. САВЕЛЬЕВА

Федеральный научный центр имени И. В. Мичурина,  
393760 Россия, Тамбовская обл., г. Мичуринск,  
ул. Мичурина, 30

\*✉ [Ranenburzhetc@yandex.ru](mailto:Ranenburzhetc@yandex.ru)

## Polymorphism of monogenic scab resistance loci in apple varieties

A. S. LYZHIN\*, N. N. SAVEL'eva

I.V. Michurina Federal Science Center,  
30 Michurina St., Michurinsk,  
Tambov Prov. 393760, Russia

\*✉ [Ranenburzhetc@yandex.ru](mailto:Ranenburzhetc@yandex.ru)

**Актуальность.** Моногенная устойчивость к парше – важный селекционный признак яблони. Использование ДНК-маркеров позволяет с высокой надежностью дифференцировать сорта яблони по отдельным детерминантам устойчивости и выявить перспективные генотипы. В представленном исследовании показаны результаты молекулярно-генетического анализа сортов яблони по локусам *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6*, *Rvi8* моногенной устойчивости к парше. **Материалы и методы.** Объектами исследования являлись сорта яблони различного эколого-географического происхождения. Экстракция геномной ДНК сортов яблони проводилась из молодых листьев согласно протоколу Diversity Arrays Technology P/L (DArT, 2014). Для идентификации гена *Rvi6* использовали STS-маркер Vfc и SCAR-маркер AL07, гена *Rvi4* – мультиаллельный SCAR-маркер AD13, генов *Rvi2* и *Rvi8* – SCAR-маркер OPL19. **Результаты и выводы.** Ген *Rvi6* идентифицирован у 54,4% генотипов, из которых 91,9% являются гетерозиготами, а 8,1% (сорта ‘Свежесть’, ‘Freedom’, ‘GoldRush’) – доминантными гомозиготами по этому локусу. Маркер AD13-SCAR выявлен у 25,0% изучаемых форм (предполагаемый генотип по гену устойчивости – *Rvi4Rvi4* или *Rvi4rvi4*). Маркер OPL19-SCAR (гены *Rvi2* и *Rvi8*) присутствует у 73,5% проанализированных форм. У 86,8% генотипов присутствует хотя бы один из изучаемых молекулярных маркеров. Сорта яблони ‘Кандиль орловский’, ‘Красуля’, ‘Созвездие’, ‘Galarina’, ‘Priam’, ‘Redfree’, ‘Witos’ характеризуются сочетанием в одном генотипе маркеров Vfc, AL07-SCAR, AD13-SCAR и OPL19-SCAR (предполагаемый генотип по генам устойчивости – *Rvi2(Rvi8)Rvi4Rvi6rvi6*). Сорта ‘Антоновка зимняя’, ‘Антоновка красная’, ‘Беркутовское’, ‘Тейзер’, ‘Памяти Нестерова’, ‘Ренет Симиренко’, ‘Терентьевка’, ‘Golden Delicious’, ‘Telemon’ предположительно имеют рецессивный гомозиготный генотип по изучаемым локусам устойчивости.

**Ключевые слова:** молекулярные маркеры, генотип, амплификация ДНК, гены устойчивости.

**Background.** Monogenic scab resistance is an important trait of apple, useful to plant breeders. DNA markers provide a possibility to differentiate apple cultivars according to individual resistance determinants with high reliability and identify promising genotypes. The present study shows the results of the molecular genetic analysis of apple varieties, targeted at the *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6* and *Rvi8* monogenic scab resistance loci. **Materials and methods.** Biological material was represented by apple cultivars of different environmental and geographical origin. Total genomic DNA was extracted from fresh leaves using CTAB methods according to the DArT protocols. The *Rvi6* gene was identified with two markers, Vfc (STS) and AL07 (SCAR). The presence of the *Rvi4* gene was detected with the multiallelic SCAR marker AD13. The *Rvi2* and *Rvi8* genes were diagnosed with the SCAR marker OPL19. **Results and conclusion.** The *Rvi6* gene was identified in 54.4% of genotypes, of which 91.9% were heterozygous, and 8.1% (cvs. ‘Svezhest’, ‘Freedom’ and ‘GoldRush’) homozygous dominant for this locus. The marker AD13-SCAR was detected in 25.0% of the studied forms (the putative genotype for the resistance gene is *Rvi4Rvi4* or *Rvi4rvi4*). The marker OPL19-SCAR (*Rvi2* and *Rvi8* genes) was present in 73.5% of the analyzed forms. At least one of the studied molecular markers was present in the genome of 86.8% of genotypes. The apple tree cultivars ‘Kandil Orlovsky’, ‘Krasulya’, ‘Sozvezdiye’, ‘Galarina’, ‘Priam’, ‘Redfree’ and ‘Witos’ are characterized by the combination of markers Vfc, AL07-SCAR, AD13-SCAR and OPL19-SCAR in one genotype (the putative genotype for the resistance genes is *Rvi2(Rvi8)Rvi4Rvi6rvi6*). Cvs. ‘Antonovka zimnyaya’, ‘Antonovka krasnaya’, ‘Berkutovskoye’, ‘Geizer’, ‘Pamyati Nesterova’, ‘Renet Simirenko’, ‘Terentyevka’, ‘Golden Delicious’, and ‘Telemon’ presumably have a homozygous recessive genotype for the studied resistance loci.

**Key words:** molecular markers, genotype, DNA amplification, resistance genes.

### Введение

Парша, возбудителем которой является сумчатый гриб *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter, – одно из наиболее вредоносных заболеваний яблони. Потери товарного урожая плодов от поражения насаждений яблони паршой могут достигать 70% (Nasonov, Suprun, 2015). Контроль распространения парши в насаждениях яблони обеспечивается в первую очередь своевременным применением фунгицидов и соблюдением других агротехнических мероприятий (Yakuba, 2013). Кроме

того, актуальным направлением борьбы с паршой в насаждениях яблони является использование в производстве сортов с генетически детерминированным иммунитетом к *V. inaequalis*. Возделывание устойчивых к парше генотипов яблони позволит снизить пестицидную нагрузку и улучшить экологическую обстановку в садовом агроценозе.

К настоящему времени у яблони идентифицировано 20 неаллельных генов, детерминирующих устойчивость к различным расам парши, для многих из которых разработаны высокоинформативные ДНК-марке-

ры (Khajuria et al., 2018). В практике наиболее широко используется ген *Rvi6* ( $V_p$ ). Вместе с тем для сохранения долговременной стабильной устойчивости насаждений яблони к парше желателен объединение в одном генотипе нескольких генетических факторов, контролирующих иммунитет, причем предпочтительно совмещение функционально отличающихся генов устойчивости, как например: *Rvi6* и *Rvi4*; *Rvi6* и *Rvi5*; *Rvi6*, *Rvi4* и *Rvi2* (Bus et al., 2011).

В настоящем исследовании представлены результаты молекулярно-генетического анализа сортов яблони с целью выявления перспективных для дальнейшей селекции источников генов *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi6*, детерминирующих устойчивость к парше.

### Материалы и методы

В качестве объектов исследования использованы сорта яблони различного эколого-географического происхождения генетической коллекции ФГБНУ «Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина» (табл. 1).

Контролями служили сорт 'Prima' (носитель гена *Rvi6*) и исходная форма R12740-7A (гены *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi8*).

Экстракция геномной ДНК была проведена из молодых листьев согласно протоколу Diversity Arrays Technology P/L (DArT, 2014).

Для идентификации гена *Rvi6* использовали доминантный внутривидовой маркер VfC (Afunian et al., 2004) и кодоминантный маркер AL07-SCAR (Tartarini et al., 1999; Patrascu et al., 2006), гена *Rvi4* – маркер AD13-SCAR (Boudichevskaia et al., 2006), генов *Rvi2* и *Rvi8* – маркер OPL19-SCAR (Bus et al., 2005a, b). Праймеры были синтезированы в ЗАО «Синтол» (Москва) и имели следующую нуклеотидную последовательность:

– маркер VfC: VfC1F 5'-GGTTCCCAAAGTCCAATTCC-3' VfC2R 5'-CGTTAGCATTTTGAGTTGAC-3';

– маркер AL07-SCAR: F 5'-TGGAAGAGAGATC-CAGAAAGTG-3' R 5'-CATCCCTCCACAAATGCC-3';

– маркер AD13-SCAR: F 5'-GGTTCCTGTAAAGCTAG-3' R 5'-GGTTCCTGTGCCCAACAA-3';

– маркер OPL19-SCAR: F 5'-ACCTGCACTACAATCTTCAC-TAATC-3' R 5'-GACTCGTTTCCACTGAGGATATTTG-3'.

**Таблица 1. Анализируемые сорта яблони**

**Table 1. The analyzed apple-tree cultivars**

№	Сорт / Cultivar	Происхождение, оригинатор / Origin, Originator
1	Анис алый	Народной селекции, Россия
2	Антоновка зимняя	
3	Антоновка каменичка	
4	Антоновка красная	
5	Антоновка обыкновенная	
6	Грушовка московская	
7	Коричное полосатое	
8	Налив желтый	
9	Титовка	
10	Терентьевка	
11	Суйслепское	Народной селекции, страны Балтии
12	Академик Казаков	Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Россия
13	Благовест	
14	Былина	
15	Гейзер	
16	Готика	
17	Каскад	
18	Красуля	
19	Памяти Нестерова	
20	Скала	
21	Стрела	
22	Успенское	Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, Россия
23	Фрегат	
24	Чародейка	
25	Болотовское	Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Россия

Таблица 1. Окончание

Table 1. The end

№	Сорт / Cultivar	Происхождение, оригинатор / Origin, Originator
26	Зеленый шум	Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, Россия
27	Кандиль орловский	
28	Орлик	
29	Поэзия	
30	Приокское	
31	Рождественское	
32	Свежесть	
33	Созвездие	Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства
34	Валюта	
35	Кумир	
36	Малюха	
37	Триумф	Качалкин М.В., Россия
38	Московское ожерелье	
39	Беркутовское	Саратовская опытная станция садоводства, Россия
40	Белорусское сладкое	РУП «Институт пловодства», Беларусь
41	Дьямант	
42	Имант	
43	Амулет	Украина
44	Полтава	
45	Ренет Симиренко	
46	Ariva	Швейцария
47	Braeburn	Новая Зеландия
48	Gala	
49	Freedom	США
50	Golden Delicious	
51	Golden Resistant	
52	GoldRush	
53	Honey Crisp	
54	Liberty	
55	Prima	
56	Priam	
57	Redfree	
58	Wealthy	
59	Fuji	Япония
60	Galarina	Франция
61	Julia	Чехия
62	Karmen	
63	Topaz	
64	Ligol	Польша
65	Witos	
66	Lobo	Канада
67	Revena	Германия
68	Telemon	Великобритания

Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 2,0 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 1,5 мМ 10x стандартного ПЦР-буфера (+ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, -KCL). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

Аmplifikation проводили в термоциклере T100 (BIO-RAD, США) по следующим программам:

– маркер VfC: 94°C – 4 мин, 30 циклов: 94°C – 1 мин, 58°C – 1 мин, 72°C – 1 мин; 72°C – 7 мин;

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

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

– маркер OPL19-SCAR: 94°C – 2 мин 45 с, 40 циклов: 94°C – 55 с, 55°C – 55 с, 72°C – 1 мин 39 с; 72°C – 10 мин.

Разделение ампликонов осуществляли методом электрофореза в 2-процентном агарозном геле. Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркер молекулярного веса Gene Ruler 100bp DNA ladder (Thermo scientific) (0,1 мкг/мкл).

### Результаты и обсуждение

Большинство известных олигогенов иммунитета яблони к парше впервые идентифицированы у различных дикорастущих видов рода *Malus* Mill., которые послужили донорами моногенной устойчивости при создании иммунных к парше сортов яблони. Источником гена *Rvi6* для селекции служит клоновая форма яблони обильноцветущей – *M. floribunda* 821 (Laurens, 1998), генов *Rvi2*, *Rvi4*, *Rvi8* – форма R12740-7A, являющаяся гибридным сеянцем от свободного опыления семян *M. pumila* Mill. (Bus et al., 2005b).

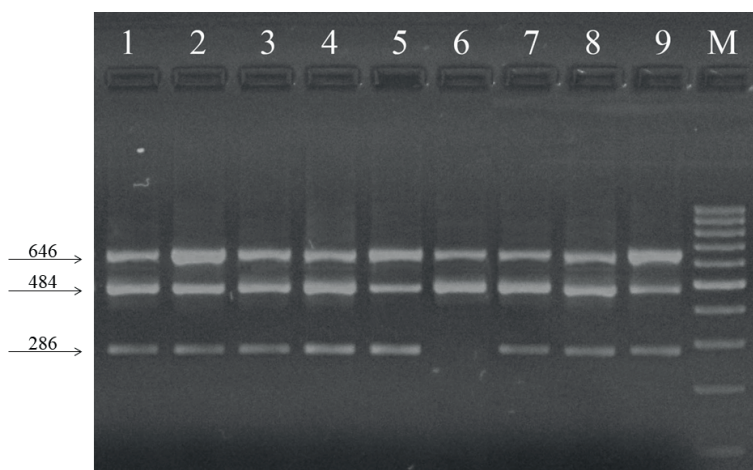
Ген *Rvi6* (по старой номенклатуре – *Vf*) расположен в группе сцепления 1 в локусе гомологичных рецептор-подобных генов *HcrV1*, *HcrV2*, *HcrV3*, *HcrV4* (Vinatzer et al., 2001). Один из паралогов *HcrVf* (предположительно *HcrV2*) детерминирует устойчивость к *V. inaequalis* (Afunian et al., 2004; Malnoy et al., 2008; Dunemann et al., 2012).

На основании анализа консервативных последовательностей локуса *HcrVf* был разработан внутригенный

маркер VfC, позволяющий выявить наличие в генотипе доминантного аллеля гена *Rvi6*. Целевыми продуктами ПЦР с праймерами VfC являются фрагменты размером 286, 484 и 646 пн. Фрагменты размером 646 и 484 пн амплифицируются как у устойчивых, так и у восприимчивых сортов яблони. Фрагмент размером 286 пн сцеплен с доминантным аллелем гена *Rvi6* и характерен только для иммунных к парше по гену *Rvi6* форм (Afunian et al., 2004). Пример идентификации гена *Rvi6* с использованием маркера VfC в анализируемой коллекции сортов яблони представлен на рисунке 1.

Анализ сортов яблони с использованием диагностического маркера VfC выявил доминантный аллель гена *Rvi6* у 37 генотипов из 68 проанализированных (табл. 2). Анализ происхождения данных сортов подтвердил присутствие в родословных источника устойчивости к парше по гену *Rvi6* – *M. floribunda* 821. Сорта народной селекции – ‘Антоновка зимняя’, ‘Антоновка каменичка’, ‘Антоновка красная’, ‘Антоновка обыкновенная’, ‘Аркад красный’, ‘Грушовка московская’, ‘Коричное полосатое’, ‘Миرونчик’, ‘Налив желтый’, ‘Суйслепское’, ‘Терентьевка’, ‘Титовка’ – характеризуются рецессивным гомозиготным генотипом по локусу *Rvi6* (*rvi6rvi6*).

Кодоминантный SCAR-маркер AL07 расположен на расстоянии 0,2 сМ от гена *Rvi6* (Xu, Korban, 2000). Доминантному аллелю гена *Rvi6* соответствует маркерный фрагмент размером 570 пн, рецессивному – 823 пн. Присутствие обоих фрагментов свидетельствует о гетерозиготном состоянии гена *Rvi6* (Patrascu et al., 2006). В отдельных случаях у форм, гетерозиготных по маркеру AL07-SCAR, может происходить амплификация дополнительного фрагмента, расположенного на электрофореграмме между фрагментами длиной 570 и 823 пн. По мнению некоторых исследователей, данный фрагмент является гетеродуплексом между ампликонами известного размера (Shupert et al., 2004). В проведенных нами ранее исследованиях (Lyzhin, Savel'eva, 2017; 2018) данный фрагмент стабильно воспроизводился и четко визуализировался в условиях эксперимента при анализе как сортов, так и гибридных сеянцев яблони. Пример идентификации гена *Rvi6* с ис-



**Рис. 1.** Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК сортов яблони с праймерами VfC:

1 – Prima, 2 – Кандиль орловский, 3 – Имант, 4 – Былина, 5 – Успенское, 6 – Golden Delicious, 7 – Академик Казаков, 8 – Белорусское сладкое, 9 – Валюта, М – маркер молекулярного веса

**Fig. 1.** DNA amplification profiles generated with primers VfC in apple cultivars:

1 – Prima, 2 – Kandil orlovskiy, 3 – Imant, 4 – Bylina, 5 – Uspenskoye, 6 – Golden Delicious, 7 – Akademik Kazakov, 8 – Belorusskoye sladkoye, 9 – Valyuta, M – molecular weight marker

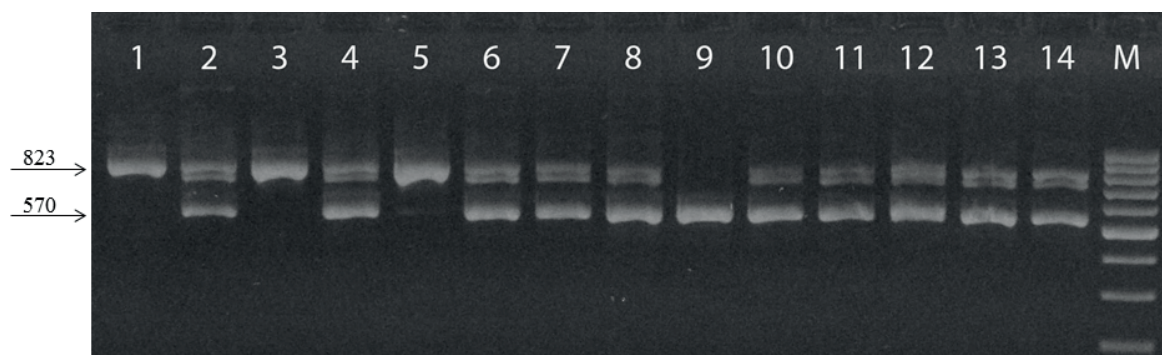
пользованием маркера AL07-SCAR представлен на рисунке 2.

Установлено, что из 37 сортов с геном *Rvi6* 34 формы гетерозиготны по маркеру AL07-SCAR, что характеризует генотип данных сортов по гену *Rvi6* как гетерозиготный (*Rvi6Rvi6*). У сортов 'Свежесть', 'Freedom' и 'Gold-Rush' маркер AL07-SCAR представлен аллелем 570 пн, что свидетельствует о доминантном гомозиготном состоянии гена *Rvi6* (*Rvi6Rvi6*).

Ген *Rvi4* (*Vh4/Vx/Vr1*) картирован в проксимальной части группы сцепления 2. Продукты амплификации с праймерами AD13 на электрофореграмме представлены фрагментами размером 750, 950, 1100 и 1300 пн. Фрагмент 950 пн сцеплен с доминантным аллелем гена *Rvi4*. Фрагменты 750, 1100 и 1300 пн могут амплифицироваться как у устойчивых, так и восприимчивых к парше по гену *Rvi4* генотипов яблони (Boudichevskaia et al., 2006). Пример идентификации гена *Rvi4* с использованием маркера AD13-SCAR представлен на рисунке 3.

С использованием маркера AD13-SCAR было проанализировано 68 сортов яблони, и фрагмент размером 950 пн, сцепленный с доминантным аллелем гена *Rvi4*, идентифицирован у 17 генотипов (25,0%), к числу которых относятся как современные сорта отечественной и зарубежной селекции, так и старинные сорта народной селекции – 'Грушовка московская', 'Титовка' (см. табл. 2.). Происхождение данных сортов народной селекции неизвестно, но предположительно ген *Rvi4* мог быть ими получен от *M. sieversii* (Ledeb.) M. Roem., отдельные экотипы которой характеризуются присутствием в геноме гена *Rvi4* (Savel'ev et al., 2016). В проведенном ранее в Чехии (Patzak et al., 2011) и Беларуси (Urbanovich, Kazlovskaia, 2008) скрининге генетической коллекции яблони (93 и 130 форм) ген *Rvi4* идентифицирован у 32,3% и 26,1% генотипов соответственно.

Гены *Rvi2* (*Vh2*) и *Rvi8* (*Vh8*) локализованы в дистальном районе группы сцепления 2. Маркер OPL19-SCAR был разработан для идентификации в геноме яблони гена

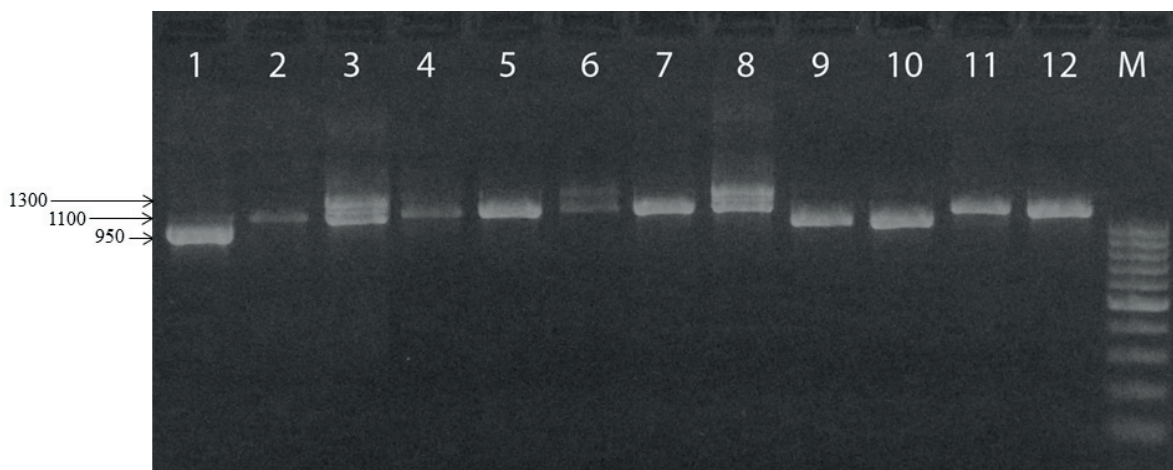


**Рис. 2.** Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК сортов яблони с праймерами AL07-SCAR:

1 – Wealthy, 2 – Golden Resistant, 3 – Орлик, 4 – Амулет, 5 – Полтава, 6 – Ariva, 7 – Revena, 8 – Karmen, 9 – Свежесть, 10 – Болотовское, 11 – Priam, 12 – Liberty, 13 – Julia, 14 – Witos; M – маркер молекулярного веса

**Fig. 2.** DNA amplification profiles generated with primers AL07-SCAR in apple cultivars:

1 – Wealthy, 2 – Golden Resistant, 3 – Orlik, 4 – Amulet, 5 – Poltava, 6 – Ariva, 7 – Revena, 8 – Karmen, 9 – Svezhest, 10 – Bolotovskoye, 11 – Priam, 12 – Liberty, 13 – Julia, 14 – Witos; M – molecular weight marker



**Рис. 3.** Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК сортов яблони с праймерами AD13-SCAR:

1 – Валюта, 2 – Малуха, 3 – Антоновка зимняя, 4 – Васюган, 5 – Кумир, 6 – Антоновка красная, 7 – Беркутовское, 8 – Триумф, 9 – Поэзия, 10 – Созвездие, 11 – Ренет Смирненко, 12 – Антоновка каменичка; M – маркер молекулярного веса

**Fig. 3.** DNA amplification profiles generated with primers AD13-SCAR in apple cultivars:

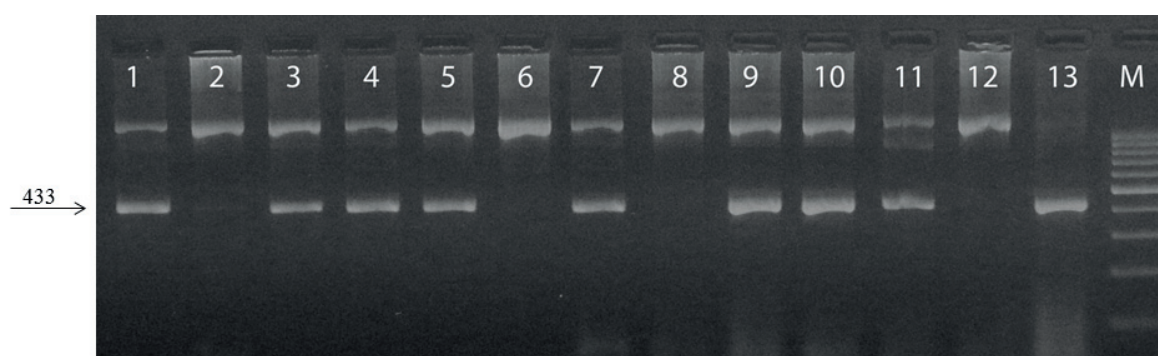
1 – Valuta, 2 – Malukha, 3 – Antonovka zimnyaya, 4 – Vasyugan, 5 – Kumir, 6 – Antonovka krasnaya, 7 – Berkutovskoye, 8 – Triumf, 9 – Poeziya, 10 – Sozvezdiye, 11 – Renet Simirenko, 12 – Antonovka kamenichka; M – molecular weight marker

*Rvi2* (Bus et al., 2005b). Однако впоследствии был выявлен отдельный фактор устойчивости к парше – ген *Rvi8*, расположенный в непосредственной близости от гена *Rvi2*. При этом было установлено, что целевой продукт ПЦР с праймерами OPL19-SCAR – фрагмент 433 пн – амплифицируется как у носителей гена *Rvi2*, так и гена *Rvi8*, демонстрирующих различную степень устойчивости при искусственном заражении отдельными расами парши (Bus et al., 2005b). Таким образом, наличие маркера OPL19-SCAR свидетельствует о присутствии в генотипе доминантных аллелей генов *Rvi2* и (или) *Rvi8*.

Пример электрофоретического спектра маркера OPL19-SCAR изучаемых сортов яблони представлен на рисунке 4.

В анализируемой коллекции сортов яблони маркер OPL19-SCAR выявлен у 50 генотипов, что составляет 73,5% от общего количества форм (см. табл. 2). Маркер OPL19-SCAR отсутствует у сортов 'Антоновка зимняя', 'Антоновка красная', 'Беркутовское', 'Валюта', 'Гейзер',

'Памяти Нестерова', 'Поэзия', 'Приокское', 'Ренет Симиренко', 'Терентьевка', 'Ariva', 'Golden Delicious', 'Golden Resistant', 'GoldRush', 'Julia', 'Karmen', 'Telemon', 'Topaz', что предположительно свидетельствует о рецессивном гомозиготном состоянии генов *Rvi2* и *Rvi8* у данных форм (генотип *rvi2rvi2rvi8rvi8*). Как следует из данных таблицы 2, у большинства проанализированных сортов яблони (86,8%) в геноме присутствует хотя бы один из изучаемых молекулярных маркеров. Двадцать сортов яблони (17,6% от общего количества) характеризуются сочетанием маркеров VfC, AL07-SCAR (ген *Rvi6*) и AD13-SCAR (ген *Rvi4*). Сочетание маркеров VfC, AL07-SCAR (ген *Rvi6*) и OPL19-SCAR (гены *Rvi2*, *Rvi8*) выявлено у 28 форм, что составляет 41,2% от общего количества генотипов. Сочетание SCAR-маркеров AD13 и OPL19 выявлено у 17,6% проанализированных сортов яблони. Сочетанием в одном генотипе маркеров VfC, AL07-SCAR, AD13-SCAR и OPL19-SCAR характеризуются сорта яблони 'Кандиль орловский', 'Красуля',



**Рис. 4.** Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК сортов яблони с праймерами OPL19-SCAR: 1 – Wealthy, 2 – Golden Resistant, 3 – Орлик, 4 – Амулет, 5 – Полтава, 6 – Ariva, 7 – Revena, 8 – Karmen, 9 – Болотовское, 10 – Priam, 11 – Liberty, 12 – Julia, 13 – Witos; M – маркер молекулярного веса

**Fig. 4.** DNA amplification profiles generated with primers OPL19-SCAR in apple cultivars: 1 – Wealthy, 2 – Golden Resistant, 3 – Orlik, 4 – Amulet, 5 – Poltava, 6 – Ariva, 7 – Revena, 8 – Karmen, 9 – Bolotovskoye, 10 – Priam, 11 – Liberty, 12 – Julia, 13 – Witos; M – molecular weight marker

**Таблица 2.** Результаты ПЦР-анализа сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше  
**Table 2.** The results of PCR analysis of apple cultivars for the monogenic scab resistance loci

Сорт / Cultivar	<i>Rvi6</i>			<i>Rvi4</i>	<i>Rvi2+Rvi8</i>
	Marker VfC	Marker AL07-SCAR		Marker AD13-SCAR	Marker OPL19-SCAR
	286 пн	570 пн	823 пн	950 пн	433 пн
Академик Казаков	+	+	+		+
Анис алый			+		+
Антоновка зимняя			+		
Антоновка каменичка			+		+
Антоновка красная			+		
Антоновка обыкновенная			+		+
Белорусское сладкое	+	+	+		+
Беркутовское			+		
Благовест	+	+	+		+
Болотовское	+	+	+		+
Былина	+	+	+		+

Таблица 2. Продолжение  
Table 2. Continued

Сорт / Cultivar	<i>Rvi6</i>			<i>Rvi4</i>	<i>Rvi2+Rvi8</i>
	Marker VfC	Marker AL07-SCAR		Marker AD13-SCAR	Marker OPL19-SCAR
	286 пн	570 пн	823 пн	950 пн	433 пн
Валюта	+	+	+	+	
Гейзер			+		
Готика			+		+
Грушовка московская			+	+	+
Дьямант	+	+	+		+
Зеленый шум	+	+	+		+
Имант	+	+	+		+
Кандиль орловский	+	+	+	+	+
Каскад	+	+	+		+
Коричное полосатое			+		+
Красуля	+	+	+	+	+
Кумир			+		+
Малюха			+		+
Московское ожерелье			+		+
Налив желтый			+		+
Орлик			+		+
Памяти Нестерова			+		
Полтава			+	+	+
Поэзия	+	+	+	+	
Приокское	+	+	+	+	
Ренет Симиренко			+		
Рождественское	+	+	+		+
Свежесть	+	+			+
Скала	+	+	+		+
Созвездие	+	+	+	+	+
Стрела			+		+
Суйслепское			+		+
Терентьевка			+		
Титовка			+	+	+
Триумф	+	+	+		+
Успенское	+	+	+		+
Фрегат	+	+	+		+
Чародейка	+	+	+		+
Амулет	+	+	+		+
Ariva	+	+	+		
Braeburn			+		+
Freedom	+	+			+
Fuji			+		+
Gala			+	+	+
Galarina	+	+	+	+	+
Golden Delicious			+		

Таблица 2. Окончание

Table 2. The end

Сорт / Cultivar	Rvi6			Rvi4	Rvi2+Rvi8
	Marker VfC	Marker AL07-SCAR		Marker AD13-SCAR	Marker OPL19-SCAR
	286 пн	570 пн	823 пн	950 пн	433 пн
Golden Resistant	+	+	+		
GoldRush	+	+		+	
Honey Crisp			+		+
Julia	+	+	+	+	
Karmen	+	+	+		
Liberty	+	+	+		+
Ligol			+		+
Lobo			+		+
Prima	+	+	+		+
Priam	+	+	+	+	+
Redfree	+	+	+	+	+
Revena	+	+	+		+
Telemon			+		
Topaz	+	+	+		
Wealthy			+	+	+
Witos	+	+	+	+	+

Примечание: символ + показывает присутствие фрагмента указанного размера

Note: the symbol + indicates the presence of a fragment of the specified size

‘Созвездие’, ‘Galarina’, ‘Priam’, ‘Redfree’ и ‘Witos’, что составляет 10,3% от общего количества изучаемых форм. У 13,2% сортов (‘Антоновка зимняя’, ‘Антоновка красная’, ‘Беркутовское’, ‘Гейзер’, ‘Памяти Нестерова’, ‘Ренет Симиренко’, ‘Терентьевка’, ‘Golden Delicious’, ‘Telemon’) изучаемые маркеры устойчивости отсутствуют, что предположительно характеризует их генотип как рецессивный гомозиготный – *rvi2rvi2rvi4r-4rvi6rvi6rvi8rvi8*.

### Заключение

С использованием молекулярных маркеров проведен анализ полиморфизма сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше. Маркеры VfC и AL07-SCAR идентифицированы у 54,4% генотипов, из которых 91,9% являются гетерозиготами, а 8,1% (сорта ‘Свежесть’, ‘Freedom’, ‘GoldRush’) – доминантными гомозиготами по гену *Rvi6*. Маркер AD13-SCAR, сцепленный с геном *Rvi4*, выявлен у 25,0%, маркер OPL19-SCAR (гены *Rvi2*, *Rvi8*) – у 73,5% проанализированных форм. Сорта яблони ‘Кандиль орловский’, ‘Красуля’, ‘Созвездие’, ‘Galarina’, ‘Priam’, ‘Redfree’, ‘Witos’ характеризуются присутствием в одном генотипе маркеров VfC, AL07-SCAR, AD13-SCAR и OPL19-SCAR (предполагаемый генотип *Rvi2(Rvi8)Rvi4Rvi6rvi6*). Сорта ‘Антоновка зимняя’, ‘Антоновка красная’, ‘Беркутовское’, ‘Гейзер’, ‘Памяти Нестерова’, ‘Ренет Симиренко’, ‘Терентьевка’, ‘Golden Delicious’, ‘Telemon’ предположительно имеют рецессивный гомозиготный генотип по изучаемым локусам устойчивости.

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

### References/Литература

- Afunian M.R., Goodwin P.H., Hunter D.M. Linkage *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
- Boudichevskaia A., Flachowsky H., Peil A., Fischer C., Dunemann F. Development of a multiallelic SCAR marker for the scab resistance gene *Vr1/Vh4/Vx* from R12740-7A apple and its utility for molecular breeding. *Tree Genetics & Genomes*. 2006;2(4):186-195. DOI: 10.1007/s11295-006-0043-3
- Bus V.G.M., Laurens F.N.D., van de Weg W.E., Rusholme R.L., Rikkerink E.H.A., Gardiner S.E. et al. The *Vh8* locus of a new gene-for-gene interaction between *Venturia inaequalis* and the wild apple *Malus sieversii* is closely linked to the *Vh2* locus in *Malus pumila* R12740-7A. *New Phytologist*. 2005a;166(3):1035-1049. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01395.x
- Bus V.G.M., Rikkerink E.H.A., Caffier V., Durel C.-E., Plummer K.M. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. *Annual Review of Phytopathology*. 2011;49(1):391-413. DOI: 10.1146/annurev-phyto-072910-095339



- Bus V.G.M., Rikkerink E.H.A., van de Weg W.E., Rusholme R.L., Gardiner S.E., Bassett H.C.M. et al. 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. *Molecular Breeding*. 2005b;15:103-116. DOI: 10.1007/s11032-004-3609-5
- DArT, 2014. Diversity Array Technology. Available from: <https://www.diversityarrays.com/orderinstructions/plant-dna-extraction-protocol-for-dart/> [accessed Dec. 20, 2019].
- Dunemann F., Gläss R., Bartsch S., Eldin M.A.S., Peil A., Bus V.G.M. Molecular cloning and analysis of apple *HcrVf* resistance gene paralogs in a collection of related *Malus* species. *Tree Genetics & Genomes*. 2012;8(5):1095-1109. DOI: 10.1007/s11295-012-0489-4
- Khajuria Y.P., Kaul S., Wani A.A., Dhar M.K. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke. *Tree Genetics & Genomes*. 2018;14(2):16. DOI: 10.1007/s11295-018-1226-4
- Laurens F. Review of the current apple breeding programmes in the world: objectives for scion cultivar improvement. *Acta Horticulturae*. 1998;484:163-170. DOI: 10.17660/ActaHortic.1998.484.26
- Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Identification of scab resistance genes in the apple varieties and hybrid forms with use of molecular markers. *Fruit Growing and Viticulture of South Russia*. 2018;53(5):1-14. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Идентификация генов устойчивости к парше у сортов и гибридных форм яблони с использованием молекулярных маркеров. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2018;53(5):1-14). DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14
- Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. The use of DNA markers in apple breeding of scab resistance. *Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia*. 2017;48(2):173-176. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Использование ДНК-маркеров в селекции яблони на устойчивость к парше. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2017;48(2):173-176).
- Malnoy M., Xu M., Borejsza-Wysocka E., Korban S.S., Aldwinckle H.S. Two receptor-like genes, *Vfa1* and *Vfa2*, confer resistance to the fungal pathogen *Venturia inaequalis* inciting apple scab disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2008;21(4):448-458. DOI: 10.1094/MPMI-21-4-0448
- Nasonov A.I., Suprun I.I. Apple scab: peculiarities of the causal agent and the pathogenesis. *Mycology and Phytopathology*. 2015;49(5):275-285 [in Russian] (Насонов А.И., Супрун И.И. Парша яблони: особенности возбудителя и патогенеза. *Микология и фитопатология*. 2015;49(5):275-285).
- Patrascu B., Pamfil D., Sestras R.E., Botez C., Gaboreanu I., Barbos A. et al. Marker assisted selection for response attack of *Venturia inaequalis* in different apple genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 2006;34(1):121-133. DOI: 10.15835/nbha341306
- Patzak J., Paprštejn F., Henychová A. Identification of apple scab and powdery mildew resistance genes in Czech apple (*Malus × domestica*) genetic resources by PCR molecular markers. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2011;47(4):156-165. <https://doi.org/10.17221/140/2011-CJGPB>
- Savel'ev N.I., Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Genetic diversity of genus *Malus* Mill. for scab resistance genes. *Russian Agricultural Sciences*. 2016;42(5):310-313. DOI: 10.3103/S1068367416050189
- Shupert D., Smith A.P., Janick J., Goldsbrough P.B., Hirst P.M. Segregation of scab resistance in three apple populations: molecular marker and phenotypic analyses. *HortScience*. 2004;39(6):1183-1184. DOI: 10.21273/HORTSCI.39.6.1183
- Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S., Gessler C. Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breeding*. 1999;118(2):183-186. DOI: 10.1046/j.1439-0523.1999.118002183.x
- Urbanovich O., Kazlovskaya Z. Identification of scab resistance genes in apple trees by molecular markers. *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture*. 2008; 27:347-357.
- Vinatzer B.A., Patocchi A., Gianfranceschi L., Tartarini S., Zhang H.B., Gessler C. et al. Apple contains receptor-like genes homologous to the *Cladosporium fulvum* resistance gene family of tomato with a cluster of genes cosegregating with *Vf* apple scab resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2001;14(4):505-515. DOI: 10.1094/MPMI.2001.14.4.508
- Xu M.L., Korban S.S. Saturation mapping of the apple scab resistance gene *Vf* using AFLP markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;101(5-6):844-851. DOI: 10.1007/s001220051551
- Yakuba G.V. Ecologized protection of apple against scab under climate change: a monograph (Ekologizirovannaya zashchita yablони ot parshi v usloviyakh klimaticheskikh izmeneniy: monografiya). Krasnodar: GNU SKZNIISiV; 2013. [in Russian] (Якуба Г.В. Экологизированная защита яблони от парши в условиях климатических изменений: монография. Краснодар: ГНУ СКЗНИИСИВ; 2013).

#### Прозрачность финансовой деятельности/The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

#### Для цитирования/How to cite this article

Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Полиморфизм сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(1):64-72. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-64-72

Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Polymorphism of monogenic scab resistance loci in apple varieties. Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2020;181(1):64-72. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-64-72

#### ORCID

Lyzhin A.S. <https://orcid.org/0000-0001-9770-8731>

Savel'eva N.N. <https://orcid.org/0000-0003-4874-7536>

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы/The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

#### Дополнительная информация/Additional information

Полные данные этой статьи доступны/Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-1-64-72>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы/The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Все авторы одобрили рукопись/All authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует/No conflict of interest