

УДК 634.11 : 632.4 : 575.113.1

DOI 10.18286/1816-4501-2020-4-94-99

ДНК-МАРКИРОВАНИЕ ПРИ СОЗДАНИИ СОРТОВ ЯБЛОНИ СО СТАБИЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ПАРШЕ

Дулов Михаил Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий отделом «Биотехнологии»

ГБУ Самарской области «Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных растений «Жигулевские сады»

443072, Самарская область, г. Самара, поселок опытной станции по садоводству, 18 км; тел. 89179549450, e-mail: dulov-tehfak@mail.ru

Ключевые слова: яблоня, сорт, селекционный процесс, гены, ДНК-маркеры, иммунитет, пирамидирование.

Применение химических средств защиты против парши яблони связано с большими материальными затратами и наносит большой вред окружающей среде. Выращивание сортов яблони со стабильной устойчивостью к парше (возбудитель *Venturia inaequalis*) позволит значительно ограничить применение пестицидов. На территории Российской Федерации иммунным считается ген Rvi6, который определяет устойчивость к пяти расам парши, включая самую агрессивную пятую. В стране имеются иммунные к парше сорта яблони, созданные учеными ВНИИСПК, СКФНЦБВ, ФНЦ им. И.В. Мичурина, ВСТИСП и других научных учреждений. В последние годы ген Rvi6 преодолен паршой во многих странах Европы, а ген Rvi5, который имеет иммунитет к четырем расам парши, преодолен на территории России и Германии. При создании высокопродуктивных сортов яблони нового поколения с хорошим вкусовым качеством плодов, долговременной и стабильной устойчивостью к парше кроме гена устойчивости Rvi6 наиболее перспективными являются источники генов Rvi5, Rvi11, Rvi12, Rvi14 и Rvi15. Гены Rvi2, Rvi4, Rvi6, Rvi7 и Rvi9 в селекционном процессе яблони лучше всего использовать в расширенных пирамидах генетической устойчивости к парше. Это позволит объединить в одном генотипе яблони несколько генов устойчивости к парше, контролирурующих иммунитет. В статье приведена характеристика ДНК-маркеров, нуклеотидная последовательность праймеров, размеры целевых фрагментов ПЦР-продукта, в том числе размеры продукта доминантной аллели для обнаружения в сортах и гибридном материале перспективных для селекции яблони Rvi-генов возбудителя *Venturia inaequalis*. Подобраны программы амплификации для идентификации генов устойчивости к различным расам парши яблони.

Введение

Наиболее распространенным грибным заболеванием яблони, вызывающим до 70% потерь урожая, является парша. Применение химических средств защиты растений для борьбы с паршой (возбудитель *Venturia inaequalis*) связано с большими материальными затратами и наносит вред окружающей среде. Использование в производстве высокопродуктивных сортов нового поколения с высоким качеством плодов со стабильной устойчивостью к парше на олиго- и дигенной основе позволит значительно ограничить или пол-

ностью исключить применение фунгицидов при выращивании яблони, что крайне важно как для здоровья человека, так и для охраны окружающей среды.

Иммунные к парше сорта яблони

В России первые комплексные исследования по созданию устойчивых к парше сортов яблони (возбудитель *Venturia inaequalis*) проведены во Всероссийском НИИ селекции плодовых культур. Первый иммунный к парше отечественный сорт Имрус включен в Государственный реестр селекционных достижений страны в 1996 году.

В настоящее время определено более 20 основных генов устойчивости к парше у сортов яблони и диких сородичей. Однако, при создании новых высокопродуктивных и иммунных к парше сортов яблони до сих пор в основном используется ген Rvi6 (Vf), полученный от *Malus floribunda* 821 и контролирующей устойчивость к пяти расам патогена (включая самую агрессивную пятую).

Большое внимание созданию устойчивых к парше сортов яблони с хорошими потребительскими и технологическими свойствами плодов уделяется в Северо-Кавказском Федеральном научном центре садоводства, виноградарства, виноделия. В результате многолетней совместной работы СКФНЦСВВ, ВНИИСПК и Ставропольской опытной станции садоводства в последние годы созданы такие иммунные к парше сорта яблони, как Заря Ставрополя, Подарок Ставрополю, Михсан, Надёжное, Георгия, Любимое Дутовой [1].

В мировой селекции яблони по созданию сортов с высоким качеством плодов и иммунных к парше на олиго- и дигенной основе вовлекают в скрещивание геноплазму диких видов – доноров устойчивости к парше, которые в процессе филогенеза приобрели стойкий естественный иммунитет: гибрид яблони Холла и яблони Зибольда (ген Vf и Vm), яблоня обильноцветущая (ген Vf) и др.

В России за последние 2-3 года результаты исследований по выделению исходных форм, созданию гибридов и сортов, устойчивых к парше яблони и методам её диагностики опубликованы во многих работах [2-8]. В Северо-Кавказском ФНЦ садоводства, виноградарства, виноделия для селекции по гену Vf иммунитета выделены источники и доноры яблони: Арива, OR18T13, Флоркинг, 12/1-20-24, 12/2-20-22, 12/2-20-24 [9]. В селекционном процессе как источники устойчивости к парше рекомендуются также сорта Хоней Крисп и Кетни [10].

Олигогенная и дигенная устойчивость яблони к парше

На территории России до сих пор считается иммунным ген Rvi6 (Vf), который определяет устойчивость к пяти расам парши, включая самую агрессивную пятую. Однако, в последние годы данный ген преодолен паршой на территории Польши, Франции, Великобритании, Германии, Чехии, Швеции, а ген Rvi5 (Vm), который имеет иммунитет к четырем расам парши, преодолен на территории России и Германии.

Исследованиями за поражаемостью 10 дифференциаторов паршой в условиях ВНИ-

ИСПК (г. Орел) обнаружено преодоление устойчивости на 3 балла для генов Rvi1 (Vg), Rvi3(Vh3), Rvi5 (Vm), Rvi8 (Vh8). Один или несколько следов поражения (2 балла) в отдельные годы обнаружен на Rvi4 (Vh4), Rvi9 (Vdg), Rvi10(Va). Отмечается, что наиболее перспективными для введения в селекционный материал на устойчивость к парше яблони являются гены Rvi11 (Vbj), Rvi12 (Vb), Rvi15 (Vr2) [11].

Выявленное преодоление некоторых генов устойчивости к парше (возбудитель *Venturia inaequalis*) необходимо учитывать при создании высокопродуктивных сортов яблони нового поколения с долговременной и стабильной устойчивостью к данному возбудителю. Для более стойкой устойчивости против парши яблони в селекционный процесс целесообразно вовлекать источники перспективных Rvi-генов и проводить их пирамидирование – соединение нескольких основных генов устойчивости в одном генотипе.

Материалы и методы исследований

Объектами исследования являются сорта и гибридные формы коллекции НИИ садоводства и лекарственных культур «Жигулевские сады» (г. Самара). Для обнаружения гена Rvi2 целесообразно применять маркер CH05e03 и OPL19, гена Rvi4 – маркер CH05e03, CH02c02a и AD13, гена Rvi5 – маркер Hi07h02, гена Rvi6 – маркер CH-Vf1, AL07 и AM19, гена Rvi9 – маркер CH03d01 и CH05e03, гена Rvi11 – маркер K08 и CH05e03, гена Rvi12 – маркер Hi07h01, гена Rvi14 – маркер HB09 и гена Rvi15 – маркер CH02f06.

Дифференциальными хозяевами яблони, несущими гены устойчивости к парше, на сегодняшний день являются следующие генотипы: ген Rvi2 – TSR34T15; ген Rvi4 – TSR33T239; ген Rvi5 – 9-AR2T196; ген Rvi6 - *Malus floribunda* 821; ген Rvi9 - J34; ген Rvi11 - *Malus Baccata* «Jackii»; ген Rvi12 - Бакката Хансена 2; ген Rvi14 - Дюльменер Розенапфель; ген Rvi15 - GMAL2473 [12]. На территории России А. С. Лыжин, Н. Н. Савельева [13] контролем присутствия в геноме яблони аллелей устойчивости к парше по гену Rvi2, Rvi4 считают исходную форму NR12740-7A, по гену Rvi6 – сорт Prima.

Характеристика ДНК-маркеров, нуклеотидная последовательность праймеров со значениями температуры плавления и размерами целевых фрагментов ПЦР-продукта, в том числе размера продукта доминантной аллели, приведена в таблице 1. Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержит: 20 нг ДНК, 1,5 мМ смеси dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂, 10 пМ каждого

Таблица 1

Характеристика ДНК-маркеров для обнаружения Rvi-генов возбудителя *Venturia inaequalis* при создании сортов яблони со стабильной устойчивостью к парше

Ген	ПЦР-маркер	Тип маркера	Последовательность праймеров (прямой и обратный 5' → 3')	Температура плавления, °С	Размер ПЦР-продукта, п.н.	Источник
Rvi2	CH05e03	SSR	F:CGAATATTTTCACTCTGACTGGG	61,1	158-190 (163)	14
			R:CAAGTTGTTGACTGCTCCGAC	62,1		
	OPL19	SCAR	F:ACCTGCACTACAATCTTCACTAATC	63,1	430	15
			R:GACTCGTTTCCACTGAGGATATTTG	63,9		
Rvi4	CH05e03	SSR	F:CGAATATTTTCACTCTGACTGGG	61,1	158-190 (172)	14
			R:CAAGTTGTTGACTGCTCCGAC	62,1		
	CH02c02a	SSR	F:CTTCAAGTTCAGCATCAAGACAA	59,3	129-176 (176)	
			R:TAGGGCACACTTGCTGGTC	59,5		
AD13	SCAR	F:GGTTCCTCTGTAAAGCTAG	55,8	950	15	
		R:GGTTCCTCTGCCAACAA	56,3			
Rvi5	Hi07h02	SSR	F:ATTTGGGGTTTCAACAATGG	58,4	226-276 (226)	
			R:GTTTCGGACATCAAACAATGTGC	64,6		
Rvi6	CH-Vf1	SSR	F:ATCACCACCAGCAGCAAAG	57,3	129-174 (159)	
			R:CATACAAATCAAAGCACAACCC	58,4		
	AL07	SCAR	F:TGGAAGAGAGATCCAGAAAGTG	60,2	466	
			R:CATCCCTCCACAATGCC	56,4		
AM19	SCAR	F:CGTAGAACGGAATTTGACAGTG	60,3	526		
		R:GACAAAGGGCTTAAGTGCTCC	61,1			
Rvi9	CH03d01	SSR	F:CGCACCACAAATCCAATC	57,3	95-115	
			R:AGAGTCAGAAGCACAGCCTC	60,5		
	CH05e03	SSR	F:CGAATATTTTCACTCTGACTGGG	61,1	158-190 (169)	14
			R:CAAGTTGTTGACTGCTCCGAC	62,1		
K08	SCAR	F:GAACACTGGGCAAAGGAAAC	58,4	743		
		R:TAAAAGCCACGTTCTCTCGC	58,1			
Rvi11	CH05e03	SSR	F:CGAATATTTTCACTCTGACTGGG	61,1	158-190 (160)	
			R:CAAGTTGTTGACTGCTCCGAC	62,1		
Rvi12	Hi07f01	SSR	F:GGAGGGCTTAGTTGGGAAC	60,5	204-220	
			R:GTTTGAGCTCCACTTCCAATCC	64,6		
Rvi14	HB09	SSR	F:GCTCAAATACTGAAGCCTTGC	59,8	210	
			R:GGGAAGCAGGATGGTACT	60,0		
Rvi15	CH02f06	SSR	F:CCCTCTCAGACCTGCATATG	61,3	135-158 (147)	
			R:ACTGTTTCCAAGCGCTCAGG	58,4		

Примечание: жирным шрифтом указан размер ПЦР-продукта доминантной аллели гена

праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 2,5 мМ 10x Taq-буфера (+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, -KCl). Амплификацию проводят в термоциклере T100 производства фирмы «BIO-RAD» (США) по программам, приведенным в таблице 2.

Разделение ПЦР-продуктов маркеров осуществляется методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Для визуализации ДНК в гель добавляют раствор бромистого этидия до конечной концентрации 0,005 %. Напряженность электрического поля при электрофорезе составляет 3,9-4,5 В/см. После электрофореза гели анализируют в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора.

Для определения длины амплифициро-

ванных фрагментов используется маркер молекулярной массы Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Результаты исследований

С 2009 года 24 организации из 14 стран Европы в рамках созданного проекта VINQUEST по резистентности *Venturia inaequalis* проводят мониторинг генов, отвечающих за устойчивость яблони к парше. За последние 10 лет исследования по определению вирулентности *Venturia inaequalis* показывают, что при степени поражения паршой в 2 балла гены устойчивости Rvi1, Rvi3 и Rvi8 отнесены к группе «часто преодолеваемые», гены Rvi6, Rvi7 и Rvi10 – в группу «иногда преодолеваемые», гены Rvi2, Rvi4, Rvi5, Rvi9,

Программы амплификации в термоциклере для идентификации генов устойчивости к различным расам парши яблони

ПЦР-маркер	LG	Реакционная смесь для ПЦР		Параметры циклов амплификации	Источник
		объем, мкл	ДНК, нг		
CH05e03	2	10	10	94 °C – 2 мин 30 с, 33 цикла: 94 °C – 30 с, 55 °C – 30 с, 72 °C – 1 мин; 72 °C – 5 мин.	16
OPL19	2	15	20	94 °C – 2'45", 40 циклов: 94 °C – 55", 55 °C – 55", 72 °C – 1'39"; 72 °C – 10'.	5
CH02c02a	2	15	15	94 °C – 5', 35 циклов: 94 °C – 40", 55 °C – 1', 72 °C – 1'20"; 72 °C – 10'.	17
AD13	4	15	20	94 °C – 2', 30 циклов: 94 °C – 1', 58 °C – 3', 72 °C – 2'; 72 °C – 10'.	5
Hi07h02	17	10	10	95 °C – 15', 30 циклов: 94 °C – 30", 60 °C – 1'30", 72 °C – 1', 60 °C – 15'; 72 °C – 15'.	16
CH-Vf1	1	10	10	94 °C – 5', 10 циклов: 94 °C – 30", 58–53 °C – 45" (снижение на 0,5 °C каждый цикл), 72 °C – 1', 25 циклов: 94 °C – 30", 53 °C – 45", 72 °C – 1'; 72 °C – 15".	
AL07	1	15	20	95 °C – 10', 35 циклов: 95 °C – 30", 59 °C – 1', 72 °C – 2'; 72 °C – 10'.	5
AM19	1	20	25	94 °C – 5', 35 циклов: 94 °C – 1', 58–63 °C – 1', 72 °C – 2'; 72 °C – 7'.	18
CH03d01	7	10	10	94 °C – 2'30"; 33 цикла: 94 °C – 30", 55 °C – 30", 72 °C – 1'; 72 °C – 5'.	16
K08	2	15	15	94 °C – 5', 35 циклов: 94 °C – 40", 64 °C – 1', 72 °C – 1'20"; 72 °C – 10'.	17
Hi07f01	12	10	10	94 °C – 5', 38 циклов: 94 °C – 30", 60 °C – 30", 72 °C – 1', 72 °C – 10'.	16
HB09	6	15	15	94 °C – 5', 35 циклов: 94 °C – 40", 64 °C – 1', 72 °C – 1'30"; 72 °C – 8'.	14
CH02f06	2	20	25	94 °C – 3', 39 циклов: 55 °C – 50", 72 °C – 1'; 72 °C – 10'.	19

Rvi12, Rvi13, Rvi14 – к группе «редко преодолеваемые», а гены Rvi11 и Rvi15 – к группе «не преодолеваемые» [12].

При повреждении яблони паршой в 3 балла и наличии уже видимых повреждений на уровне 1-5% пораженных листьев гены Rvi1, Rvi3 и Rvi8 остаются в группе «часто преодолеваемые». Гены Rvi6, Rvi7 и Rvi10, вместе с генами Rvi2, Rvi4, Rvi5, Rvi9, Rvi12, Rvi13 и Rvi14, находятся в группе «редко преодолеваемые». Гены Rvi11 и Rvi15 остаются в группе «не преодолеваемые».

Исследования А. В. Пикуновой, Е. Н. Седова [20], проведенные в условиях естественного инфекционного фона Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур (Центральная часть России), указывают на преодоление на территории Российской Федерации гена устойчивости Rvi1 при поражении паршой в 3 балла и более на сортах дифференциаторах Gala, Golden Delicious (несут ген Rvi1/Vg), гена Rvi3 – на форме Q71 (F₁ от сорта Женева, несет ген Rvi3/Vh3), гена Rvi5 – на форме 9-AR2T196 (несет ген Rvi5/Vm от Malus micromalus 245-38).

Поскольку преодоление генов резистентности Rvi5, Rvi12 и Rvi14 до настоящего времени встречается достаточно редко, то эти гены вместе с Rvi11 и Rvi15, которые до сих пор не были преодолены, являются лучшими источниками устойчивости к возбудителю *Venturia inaequalis*, имеют большие перспективы для создания сортов яблони нового поколения с долговремен-

ной и стабильной устойчивостью к парше.

Кроме того, для повышения стабильной устойчивости сортов яблони к парше в селекционный процесс Rvi-гены лучше всего вовлекать в расширенных пирамидах генов устойчивости. Наибольшие перспективы у генов Rvi5, Rvi14 и Rvi15, они имеют преимущества по сравнению с генами Rvi11 и Rvi12, которые присутствуют в мелкоплодных диких яблоках, что в итоге для улучшения размера и качества плодов требует больше поколений обратного скрещивания.

Заключение

При создании высокопродуктивных сортов яблони нового поколения с хорошим вкусовым качеством плодов и стабильной устойчивостью к парше кроме гена устойчивости Rvi6, который до настоящего времени на территории Российской Федерации считается иммунным, наиболее перспективными являются источники генов Rvi5, Rvi11, Rvi12, Rvi14 и Rvi15. Гены Rvi2, Rvi4, Rvi6, Rvi7 и Rvi9 в селекционном процессе яблони лучше всего использовать в расширенных пирамидах генетической устойчивости к парше. Это позволит объединить в одном генотипе яблони несколько генов устойчивости к парше, контролирующих иммунитет.

Библиографический список

1. Ульяновская, Е. В. Основные результаты комплексных исследований СКФНЦБВ и СОС по селекции плодовых растений / Е.В. Ульяновская, А.П. Кузнецова, И.Л. Ефимова [и др.] // Научные труды СКФНЦБВ. – 2020. – Т. 27. – С. 17-31.

2. Ульяновская, Е. В. Новые сорта яблони Михсан и Заря Ставрополя / Е.В. Ульяновская, В.Г. Ермоленко, Т.Г. Причко // Научные труды Северо-Кавказского Федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2018. – Т. 14. – С. 51-54.
3. Ульяновская, Е. В. Ускоренное создание сортов яблони с иммунитетом к парше / Е.В. Ульяновская, И.И. Супрун, С.В. Токмаков [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. - № 73. – С. 218-222.
4. Должикова, М.А. ДНК-генотипирование гибридного фонда яблони ВНИИСПК на присутствие гена Vf устойчивости к парше / М.А. Должикова, А.В. Пикунова, Е.Н. Седов, З.М. Серова // Современное садоводство. – 2018. - № 3 (27). – С. 27-32.
5. Лыжин, А. С. Полиморфизм сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше / А.С. Лыжин, Н.Н. Савельева // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2020. – Т. 181. - № 1. – С. 64-72.
6. Савельева, Н. Н. Успехи селекции яблони в ФНЦ им. И.В. Мичурина // Н.Н. Савельева, А.Н. Юшков, А.С. Земисов [и др.] // Роль сорта в современном садоводстве. Материалы Международной научно-методической дистанционной конференции. – Воронеж: Издательство «Кварт», 2019. – С. 248-253.
7. Савельева, Н. Н. Маркер-контролируемый скрининг генотипов яблони с иммунитетом к парше / Н.Н. Савельева, А.С. Лыжин // Аграрная наука. – 2019. - № 53. – С. 135-137.
8. Седов, Е. Н. Новые триплоидные сорта яблони, иммунные к парше / Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, З.М. Серова, Т.В. Янчук // Наше сельское хозяйство. – 2020. - № 1 (225). – С. 110-113.
9. Ульяновская, Е. В. Селекционное совершенствование генетических ресурсов яблони / Е. В. Ульяновская, Т.В. Богданович, И.И. Супрун [и др.] // Наука Кубани. – 2018. - № 1. – С. 30-36.
10. Ульяновская, Е. В. Генетические ресурсы для селекционного совершенствования яблони / Е. В. Ульяновская, Т. В. Богданович // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2018. - № 51 (3). – С. 1-14.
11. Должикова, М. А. Маркер вспомогательная селекция яблони (*Malus Mill.*) на устойчивость к парше (*Venturia Inaequalis* (Ске.) Wint). Пирамидинг генов устойчивости / М. А. Должикова, А. В. Пикунова, Е. Н. Седов // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. - Москва, 2018. – С. 65-66.
12. Patocchi, A. Ten Years of VINQUEST: First Insight for Breeding New Apple Cultivars With Durable Apple Scab Resistance / A. Patocchi, A. Wehrli, P.-H. Dubuis et al // Plant Disease. – 2020. – V. 104. - № 8. doi: 10.1094/PDIS-11-19-2473-SR.
13. Лыжин, А. С. Идентификация генов устойчивости к парше у сортов и гибридных форм яблони с использованием молекулярных маркеров / А. С. Лыжин, Н. Н. Савельева // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2018. - № 53 (5). – С. 1-14.
14. Patocchi, A. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultisubsp.s: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes / A. Patocchi, A. Frei, J. E. Frey, M. Kellerhals // Molecular Breeding. – 2009. - V.24 – P.337– 347.
15. Козловская, З. А. Выявление новых комплексных источников устойчивости к болезням яблони с использованием молекулярных методов в Беларуси / З. А. Козловская, Ю. Г. Кондратенко, Т. А. Гашенко, С. А. Ярмолич // Садоводство и виноградарство. – 2018. – С. 23-29.
16. Patocchi, A. Development and test of 21 multiplex PCRs composed of SSRs spanning most of the apple genome / A. Patocchi, F. Fernández-Fernández, K. Evans et al. // Tree Genetics & Genomes. – 2009. – V. 5. – P. 211-223.
17. Karapetsi, L. Molecular screening of domestic apple cultivars for scab resistance genes in Greece / L. Karapetsi, I. Nianiou-Obeidat, A. Zambounis et al // Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. – 2020. doi: 10.17221/119/2019-CJGPB.
18. Sheikh, M. A. Phenotypic and molecular screening for disease resistance of apple cultivars and selections against apple scab (*Venturia inaequalis*) / M. A. Sheikh, K. M. Bhat, J. I. Mir et al // International Journal of Chemical Studies. – 2017. - № 5(4). - 1107-1113.
19. Wu, J. High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers / J. Wu, L.-T. Li, M. Li et al // Journal of Experimental Botany. – 2014. - V. 65. - № 20. – P. 5771–5781.
20. Пикунова, А. В. Расовый состав *Venturia inaequalis* в условиях Орловской области / А.В. Пикунова, Е.Н. Седов // Микология и фитопатология. – 2019. – Т. 53. - № 5. – С. 293-300.

DNA MARKING WHEN CREATING APPLE VARIETIES WITH STABLE SCAB RESISTANCE

Dulov M.I.

SBI of the Samara region «Research Institute of horticulture and medicinal plants «Zhigulevskie gardens»
443072, the Samara region, Samara, village of the experimental gardening
station, 18 km; tel. 89179549450, e-mail: dulov-tehfak@mail.ru

Key words: apple tree, variety, selection process, genes, DNA markers, immunity, stacking.

The use of chemical means of protection against Apple scab is associated with high material costs and causes great harm to the environment. Growing of apple varieties with stable resistance to scab (the pathogen *Venturia inaequalis*) will significantly limit the use of pesticides. On the territory of the Russian Federation, the Rvi6 gene is considered immune, which determines resistance to five scab races, including the most aggressive fifth. The country has scab-immune apple varieties created by scientists from VNIISPK, NCFSCHWWG, FRC named after I. V. Michurin, VSTISP and other scientific institutions. In recent years, the Rvi6 gene has been overcome by scab in many European countries, and the Rvi5 gene, which is immune to four scab races, has been overcome in Russia and Germany. When creating high-yielding apple varieties of a new generation, with good fruit flavor quality, long-term and stable resistance to scab, in addition to the rvi6 resistance gene, the most promising sources are the Rvi5, Rvi11, Rvi12, Rvi14 and Rvi15 genes. The Rvi2, Rvi4, Rvi6, Rvi7 and Rvi9 genes in the apple breeding process are best used in extended pyramids of genetic resistance to scab. This will allow you to combine several scab resistance genes that control the immune system in one apple genotype. The article describes the characteristics of DNA markers, the nucleotide sequence of primers, the size of target fragments of the PCR product, including the size of the dominant allele product for detecting Rvi genes of the *Venturia inaequalis* pathogen that are promising for apple breeding in varieties and hybrid material. Amplification programs were selected to identify resistance genes to various races of apple scab.

Bibliography

1. Main results of complex research of the SCFNCSVV and SSSS on fruit plant breeding / E. V. Ulyanovskaya, A. P. Kuznetsova, I. L. Efimova [et al.] // Scientific works of SKFNCSVV. – 2020. – V. 27. – P. 17-31.
2. Ulyanovskaya, E. V. New apple varieties Mihsan and Zarya of Stavropol / E. V. Ulyanovskaya, V. G. Ermolenko, T. G. Prichko // Scientific works of the North Caucasus Federal scientific center for horticulture, viticulture, and winemaking. – 2018. – V. 14. – P. 51-54.
3. Fast development of apple varieties with scab immunity / E. V. Ulyanovskaya, I. I. Suprun, S. V. Tokmakov [et al.] // Proceedings of the Kuban state agrarian university. – 2018. – № 73. – P. 218-222.
4. DNA genotyping of the hybrid fund of the VNIISPK apple tree on the presence of Vf scab resistance gene / M. A. Dolzhnikova, A. V. Pikunova, E. N. Sedov, Z. M. Serova // Modern horticulure. – 2018. – № 3 (27). – P. 27-32.
5. Lyzhin, A. S. Polymorphism of apple varieties by locus of monogenic resistance to scab / A. S. Lyzhin, N. N. Savelyeva // Works on applied botany, genetics and breeding. – 2020. – V. 181, № 1. – P. 64-72.
6. Success of apple breeding in the FRC named after I. V. Michurin / N. N. Savelyeva, A. N. Yushkov, A. S. Zemiso [et al.] // The role of varieties in modern gardening: materials of the international scientific and methodological distant conference. – Voronezh : Kvarta, 2019. – P. 248-253.
7. Savelyeva, N. N. Marker-controlled screening of apple genotypes with scab immunity / N. N. Savelyeva, A. S. Lyzhin // Agrarian science. – 2019. – № 53. – P. 135-137.
8. New triploid apple varieties, immune to scab / E. N. Sedov, G. A. Sedysheva, Z. M. Serova, T. V. Yanchuk // Our agriculture. – 2020. – № 1 (225). – P. 110-113.
9. Breeding improvement of apple tree genetic resources / E. V. Ulyanovskaya, T. V. Bogdanovich, I. I. Suprun [et al.] // Kuban science. – 2018. – № 1. – P. 30-36.
10. Ulyanovskaya, E. V. Genetic resources for apple tree breeding improvement / E. V. Ulyanovskaya, T. V. Bodanovich // Fruit growing and viticulture in the South of Russia. – 2018. – № 51 (3). – P. 1-14.
11. Dolzhnikova, M. A. Marker auxiliary selection of apple trees (*Malus Mill.*) for scab resistance (*Venturia inaequalis* (Cke.) Wint). Pyramiding of resistance genes / M. A. Dolzhnikova, A. V. Pikunova, E. N. Sedov // Biotechnology in crop production, animal husbandry and veterinary medicine. - Moscow, 2018. – P. 65-66.
12. Ten Years of VINQUEST: First Insight for Breeding New Apple Cultivars With Durable Apple Scab Resistance / A. Patocchi, A. Wehrli, P.-H. Dubuis [et al.] // Plant Disease. – 2020. – V. 104, № 8.
13. Lyzhin, A. S. Identification of scab resistance genes in apple varieties and hybrid forms using molecular markers / A. S. Lyzhin, N. N. Savelyeva // Fruit and viticulture in the South of Russia. – 2018. – № 53 (5). – P. 1-14.
14. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultisubsp.s: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes / A. Patocchi, A. Frei, J. E. Frey, M. Kellerhals // Molecular Breeding. – 2009. – V. 24. – P.337– 347.
15. Identification of new complex sources of resistance to apple diseases using molecular methods in Belarus / Z. A. Kozlovskaya, Yu. G. Kondratenok, T. A. Gashenko, S. A. Yarmolich // Horticulture and viticulture. – 2018. – P. 23-29.
16. Development and test of 21 multiplex PCRs composed of SSRs spanning most of the apple genome / A. Patocchi, F. Fernández-Fernández, K. Evans [et al.] // Tree Genetics & Genomes. – 2009. – V. 5. – P. 211-223.
17. Molecular screening of domestic apple cultivars for scab resistance genes in Greece / L. Karapetsi, I. Nianiou-Obeidat, A. Zambounis [et al.] // Czech Journal of Genetics and Plant Breeding. – 2020. P.
18. Phenotypic and molecular screening for disease resistance of apple cultivars and selections against apple scab (*Venturia inaequalis*) / M. A. Sheikh, K. M. Bhat, J. I. Mir [et al.] // International Journal of Chemical Studies. – 2017. – № 5(4). – P.1107-1113.
19. High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers / J. Wu, L.-T. Li, M. Li [et al.] // Journal of Experimental Botany. – 2014. – V. 65, № 20. – P. 5771–5781.
20. Pikunova, A. V. Racial composition of *Venturia inaequalis* in the Orel region / A. V. Pikunova, E. N. Sedov // Mycology and phytopathology. – 2019. – V. 53, № 5. – P. 293-300.