

APPLICABILITY OF GENOMIC TECHNOLOGIES FOR IMPROVING IMPORTANT TRAITS IN HORTICULTURAL PERENNIAL CROPS

Ryabushkina N.A., Pozharskiy A.S., Omasheva M.Y.

*Institute of Plant Biology and Biotechnology,
Timiryazev str., 45, Almaty, 050040, Kazakhstan
natrya7@yahoo.com*

ABSTRACT

Horticultural perennial crops are cultivated on one-eighth of global agricultural areas and are significant contributors to world food production. Fruits and berries from such crops are recognized as essential for good nutrition and prevention of numerous diseases. However, developing cultivars that meet modern economic and environmental demands require many breeding cycles and a considerable period. Modern varieties are developed to show high quality and yield, and resistance to pathogens and pests. The recent developments in high-throughput DNA sequencing technologies have been exploited to identify the associations between genes and/or genomic intervals controlling important traits and phenotype. These technologies also enable the development of molecular markers for assisted selection and breeding, the introgression of useful traits from wild relatives such as disease resistance, fruit quality, and rootstock characteristics. Genomic methods provide a valuable approach for the selection of traits of interest in seeds or seedlings and for the improvement of breeding efficiency through marker-assisted selection (MAS) and genome-wide association studies (GWAS). The accurate and cost-effective characterization of large collections of diverse wild germplasms supports such breeding initiatives. Grapevines and apples are among the most economically important of perennial crops and are affected by a large number of pathogens. The monogenic nature of many resistance genes has allowed the identification of homologs in wild relatives and enables the development of molecular markers linked to resistance loci. Thus, genomic approaches in combination with traditional breeding methods offer a promising prospect for improving perennial crops.

Keywords: perennials, crop wild relatives, molecular markers, next generation sequencing, genomics-assisted breeding, disease resistance, grapevine, apple.

УДК 631.52:577.21:632.4:634.8:634.11

ПРИМЕНИМОСТЬ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ПРИЗНАКОВ НА ПРИМЕРЕ МНОГОЛЕТНИХ ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР

Рябушкина Н.А., Пожарский А.С., Омашева М.Е.

*Институт биологии и биотехнологии растений
ул. Тимирязева, 45, Алматы, 050040, Казахстан
natrya7@yahoo.com*

АБСТРАКТ

Многолетние культуры, занимая в мире более 1/8 всех возделываемых площадей, вносят значимый вклад в производство продуктов питания. Существенным компонентом здорового питания общепризнана продукция плодовых культур. К создаваемым новым сортам предъявляются повышенные требования по урожайности и качеству продукции, устойчивости к болезням и вредителям, адаптивности к изменяющимся условиям среды и др. При этом традиционная селекция многолетников, направленная на интродукцию признаков интереса, в том числе из диких сородичей культурных видов, занимает десятки лет. Отражаемые и анализируемые в ряде современных обзоров разрабатываемые молекулярные подходы – это перспективный потенциал для оптимизации и ускорения процесса селекции новых сортов многолетних растений. Создание и использование различных типов молекулярных маркеров, выявление взаимосвязей между генами/геномными интервалами, контролирующими полезные признаки, новые техники секвенирования генома, помогают использовать и отслеживать наследование этих признаков в селекционном процессе (MAS), интродукции полезных

признаков из диких сородичей, таких как устойчивость к болезням, требуемые характеристики подвоев и др., повышая эффективность селекции. Совершенствование подходов, основанных на изучении обширных ассоциаций и даже полного генома (GWAS), предполагает точные и экономичные оценки коллекций гермоплазмы диких сородичей культурных видов. Одним из перспективных направлений, уже приносящих конкретные результаты в селекционной практике, является выявление с помощью молекулярных маркеров на ювенильной стадии развития многолетних культур, например, таких как яблоня и виноград, носителей устойчивости к вредителям и болезням и создание на этой основе сортов с интродуцированными признаками интереса.

Ключевые слова: древесные культуры, дикие сородичи, молекулярные маркеры, секвенирование следующего поколения, селекция на основе геномики, устойчивость к болезням, виноград, яблоня.

ВВЕДЕНИЕ

Комплексная оценка достижений молекулярных, биохимических и физиологических подходов, обусловленность реализации биохимических и физиологических свойств организма генетической составляющей – современная тенденция разработки технологий для улучшения культурных растений. Наряду с качеством и урожайностью, устойчивость к вредителям и патогенам является одним из важнейших требований к создаваемым современным сортам. Для многофакторной оценки многолетних растений чрезвычайно важна возможность выявлять молекулярные носители признаков интереса на ранних стадиях развития. Это обусловлено тем, что не только качественные характеристики конечной продукции проявляются только после перехода от длительного ювенильного периода к генеративной фазе, но и необходимая традиционная оценка в естественных условиях, например, таких значимых признаков как устойчивость к болезням, осуществляется на протяжении ряда лет. Использование различных типов молекулярных маркеров и развиваемых на их основе геномных технологий, одновременно анализирующих на уровне генома большое количество фенотипически различающихся индивидуумов, позволяет идентифицировать гены и/или геномные интервалы, контролируемые значимые биологические характеристики, изкладывает базис совершенствования и ускорения селекционного процесса.

Создание новых сортов многолетних растений, включая хозяйственно-значимые плодовые, орехоплодные культуры, а также виноград, состоит из нескольких циклов гибридизации и может продолжаться в зависимости от культуры в среднем 20-25 лет. Более того, при создании новых линий, сортов следует учитывать комплекс показателей: только появление новых штаммов патогенов и новых вредителей и ожидаемые климатические изменения, экологические требования, снижение экономических затрат при возделывании культуры и даже изменения в потребительских предпочтениях [1]. В последнее десятилетие появились реальные предпосылки перехода от техники традиционной селекции, основывающейся на фенотипических признаках, к подходам, привлекающим геномные характеристики, таким как выявление «признак-локус» ассоциаций. Использование подходов на основе подтверждаемых фенотип-генотип ассоциаций может не только сокращать продолжительность селекционного процесса, но и, учитывая размеры древесных культур, преодолевать фактор необходимости создания большого количества индивидуумов в сегрегирующих популяциях для их экспериментальной оценки в контролируемых условиях [2]. При этом не стоит забывать, что адекватное, достоверное фенотипирование – это определяющий начальный этап для «увязки» молекулярного маркера с признаком интереса, т.е. фенотипическая характеристика и оценка разнообразия на основе молекулярных техник должны быть комплементарны [3]. На данный момент тщательное, корректное и экономичное фенотипирование больших коллекций многолетних растений, представляющих биоразнообразие дикой и культурной гермоплазмы, является узким местом (phenotyping bottleneck) для эффективности геномного картирования [4]. Тем не менее, углубляющиеся знания и доступность определения полных последовательностей ДНК на уровне индивидуума и соответствующие выявленные генотип-фенотип ассоциации предоставляют ключевую информацию для достижения конкретных целей селекции [2].

Поступательное развитие различных типов молекулярных маркеров и технологий секвенирования позволяет характеризовать меру генетического разнообразия на основе аллельного представительства и, соответственно, структуру популяций, взаимосвязи диких и культурных сородичей и др. Так, для изучения биоразнообразия плодовых деревьев, представителей более 30 родов умеренной и тропической зон использовались 7 основных типов молекулярных маркеров: AFLP, ISSR, RAPD, SSR, RFLP, SNP+EST [3]. Современные технологии (NGS, Next Generation Sequencing или HTP, High-throughput sequencing), например, на основе полиморфизма по одному нуклеотиду (SNP), позволяют осуществлять одновременный сравнительный анализ множества последовательностей во множестве образцов. Повышающаяся доступность, существенное снижение стоимости процедур NGS позволяют характеризовать обширные области и даже полный геном (genome-wide characterization), осуществлять описание, профайлинг (profiling mRNAs, small RNAs), профайлинг транскриптома (RNA-SEQ), областей факторов транскрипции, метилирования ДНК, структуры хроматина и т.д. Следует отметить, что первые секвенирования геномов на основе Sanger технологии, требующей бактериального клонирования больших фрагментов ДНК (Bacterial Artificial Chromosome), не позволяли получать удовлетворительные результаты на больших геномах с множеством повторяющихся последовательностей и, тем более, полиплоидных организмов, и только разработки техники секвенирования

последующих поколений предоставляют совершенствуемые подходы в этой области. Более того, Sanger и NGS технологии могут зачастую комбинироваться.

ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ МНОГОЛЕТНИХ ДРЕВЕСНЫХ КУЛЬТУР

Badenescoавт. [2] представили обзор основных молекулярных технологий, разрабатываемых и используемых в последнее десятилетие, в том числе для выявления генов интереса и оптимизации селекционного процесса древесных видов. Ниже кратко цитируется описание и характеристика этих молекулярных технологий. Одной из особенностей технологий секвенирования NGS является возможность экономически эффективно в одном цикле получать миллионы ДНК последовательностей и детально анализировать полиморфизм, картировать мутации, выявлять и характеризовать некодирующие последовательности и др. Различные NGS платформы включают Roche 454R, SOLiDR, Solexa, Illumina. В настоящее время разрабатываются технологии третьего поколения, модернизирующие протоколы секвенирования: Helicos Heliscope, Complete Genomics, Nanopore и Pacific Biosciences SMRT. Так, для характеристики аллельного разнообразия хозяйственно значимых представителей семейства розоцветных, таких как персик [5], яблоня [6], использованы microarray the Infinium платформы для SNP генотипирования. На платформе Illumina HiSeq 4000 секвенирован геном яблони «Golden Delicious» [7].

На примере 8-ми представителей видов рода *Prunus* техника «Genotyping by Sequencing» (GBS) позволила сочетать секвенирование генома с идентификацией маркеров для генотипирования и выявления причинных мутаций и разработки маркеров для получения информации о родословной межвидовых гибридов подвоев *Prunus* [8]. Последовательности хлоропластной ДНК используются для установления филогенетических взаимоотношений между различными видами и родами плодовых культур. С разработкой подходов «сборки целых геномов» (whole-genome assemblies) и при высоком разрешении интервалов, картирующих признаки, повышается вероятность идентификации кандидатов генов интереса. Исследование генетического разнообразия на основе характеристики полного генома (Genome-Wide Genetic Diversity Studies) позволяет оценить генетические различия, проявляющиеся фенотипически, и отобрать те SNP маркеры, которые выявляют биологически значимые последовательности (мутации), обуславливающие фенотипические вариации между группами и популяциями [9]. Для селекционеров, например, малины и яблони, на основе GBS создаются генетические карты признаков интереса [10, 11].

Применение технологии Ре-секвенирования геномов (Re-Sequencing Genomes) для всех секвенированных ранее древесных геномов позволяет осуществлять сравнительную оценку современных сортов, диких сородичей, предков и местных стародавних сортов для выявления генетических различий между вариантами, картирования транспозонов, картирования специфических локусов, таких как устойчивость к болезням, качество плодов и других экономически значимых признаков. В результате ре-секвенирования выявляются многие тысячи новых SNP маркеров и вставок/делеций (indels), анализ которых используется для создания карт генетического сцепления и идентификации количественных признаков. Так, использование NGS при сравнении сорта яблони, характеризующегося устойчивостью к болезням, более короткими междоузлиями и более нежным фруктовым ароматом плодов, с родительскими сортами и референсным сортом «Golden Delicious» позволило выявить 17 генов, имеющих отношение к устойчивости к болезням, 10 генов к гиббереллину и 19 генов, ассоциированных с ароматом плодов [12]. Использование современных геномных подходов способствует точному «отображению» местоположения генов и «препарированию» признаков. Так, ген, ответственный за фенотип яблони, проявляющийся как «колоннообразный рост» (*Co*), был картирован в интервале 200 кб в группе сцепления 10 [13]. Сравнение геномного секвенирования (High Throughput Genomic Sequencing, HTGS) мутанта «McIntosh Wijcik» по вышеуказанному признаку, обнаруженного в 1960-е годы, и «дикого типа» «McIntosh» выявило вставку мобильного элемента (*Ty3/Gypsy retrotransposon*) по положению 18.8 Mb [14]. Более того, этот элемент был обнаружен во всех сортах с данным признаком архитектуры растения. Вставка была локализована в межгенной области, но при этом строго контролировала экспрессию 2OG-Fe(II) оксигеназы, *MdCo3*. Конститутивная экспрессия этого гена в *Arabidopsis thaliana* проявилась Co-подобным фенотипом [15].

Одним из инструментов, предоставляемых новыми геномными технологиями, является идентификация и сравнительная характеристика *insilico* генов и семейств генов, имеющих отношение к значимым полезным признакам (Genome-Wide Sequences for Gene Mining). Благодаря этому подходу был выявлен ряд семейств генов, в том числе факторов транскрипции, аналогов генов устойчивости (resistance gene analogs, RGAs) и др. Например, анализ на основе биоинформатики баз данных, полученных при использовании геномных и протеомных технологий, позволил идентифицировать 59 WRKY факторов транскрипции винограда (*VvWRKYs*) и классифицировать их на три основные группы, экспрессирующиеся в различных органах и тканях на разных стадиях развития, а также в ответ на биотические и абиотические стрессы [16]. При сравнении данных по винограду и арабидопсису, члены внутри одной группы или подгруппы имели подобную структуру генов, указывая на тесные эволюционные связи. Были оценены профили транскрипции (qRT-PCR) факторов *VvWRKYs* в ответ на стресс засухи, инфекцию оидиумом (*Erysiphe necator*) и воздействие салициловой кислоты и этилена, что служит основой для дальнейшего изучения сравнительной функциональной геномики.

Понимание функциональных элементов генома на разных стадиях развития, а также механизмов при инфицировании патогенами и устойчивости к ним, базируется на оценке транскриптома

(Deep Sequencing of Transcriptomes: RNA-SEQ), ключевыми целями которого являются: создание каталогов всех видов транскриптов (mRNAs, non-coding RNAs, small RNAs) и определение транскрипционной структуры генов и пост-транскрипционных модификаций; количественная оценка уровней экспрессии каждого транскрипта в процессе развития и при воздействиях различных факторов [17]. Так, использование RNA-SEQ на разных стадиях развития яблони «Golden Delicious» позволило улучшить референс транскриптом на основе создания коллекции 71,178 генов или транскриптов, из них 17,524 новых транскриптов [18]. Изучение транскриптома плодовых деревьев оказалось эффективным при характеристике процессов инфицирования патогенами и путей устойчивости. В ряде исследований было показано, что гены, вовлекаемые в фотосинтез, метаболизм клеточной стенки, гормональные сигналы и защитные механизмы растений дифференциально регулируются при инфицировании патогенами. Например, сравнение на основе платформы CombiMatrix microarray изменений транскриптома в представителях винограда: устойчивого вида *V. riparia* и чувствительного *V. vinifera* после инокуляции *Plasmopara viticola* выявило репрограммирование транскриптома в сторону быстрого и существенного индуцирования синтеза белков, имеющих отношение к патогенезу (pathogenesis-related proteins, PR proteins), и синтеза фенол-пропаноидных соединений в устойчивом представителе, которые индуцировались в значительно меньшей степени в чувствительном [19]. В *V. riparia* модулировались транскрипты каскадов передачи сигналов, гиперчувствительного ответа и биосинтеза жасмоната. Используя секвенирование транскриптома (Deep transcriptome sequencing, Illumina strand-specific RNA-Seq technology) трех образцов дикого винограда Китая: *V. pseudoreticulata* – «Baihe-13-1» (BH) и «Hunan-1» (HN), а также *V. quinquangularis* «Shang-24» (S), инокулированных *Erysiphe necator*, исследователи сравнили полученные SNPs' и indels' данные с референсным геномом PN40024 [20]. Было показано, что 93% транскриптов совпадали с референсом, а более 1600 транскриптов отсутствовали или сильно отличались от генома PN40024. В соответствующих геномах было идентифицировано 145 (BH), 215 (HN) и 196 (S) отдельных генов, предсказуемо кодирующих белки, имеющие отношение к болезни (disease-related proteins). В каждом генотипе было выявлено от 100 до 200 антисенс-транскриптов (cis-natural antisense transcripts, cis-NAT), обогащенных генами, вовлеченными во вторичный метаболизм и ответные реакции растений на абиотические стрессы.

Технология CRISPR/Cas9 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/CRISPR-associated (Cas) protein 9) разработана, по определению исследователей, как альтернатива классической селекции и трансгенных методов улучшения культурных растений [21]. В сравнении с классической селекцией, которая при интродукции признаков интереса в элитные сорта, например, из диких сородичей, требует многолетних затрат по проведению большого количества беккроссов, принцип действия CRISPR/Cas9 системы – целенаправленное «редактирование» отдельных определенных сайтов в геноме посредством точечных вставок, делеций, т.е., как считают исследователи, более эффективных и быстрых целенаправленных мутаций. Другими словами, подход позволяет осуществлять целенаправленные генетические вариации на уровне аллелей. С другой стороны, метод предпочтителен по сравнению с трансгенными технологиями, поскольку, согласно исследователям, редактирование генома реализуется без интродукции чужеродной ДНК в клетки реципиента [22]. Техника CRISPR/Cas9 использует small RNA для нацеливания Cas9 нуклеазы в определенное место, сайт в геноме, приводя в итоге к мутациям в рамке считывания, с последующим этапом NGS, подтверждающим наследование генетических изменений в последующих поколениях. Технология может использоваться для «внедрения» желаемых изменений (knock-outs) в последовательность одного или ряда нежелательных, вредных генов и интродукции SNP в ген интереса [21]. В перспективе данная технология может быть направлена на признаки качества продукта, инжиниринг метаболома через регуляторные пути, а также снижения чувствительности (susceptibility) к патогенам, поскольку с помощью GBS уже выявлен, например, ген чувствительности (Sen1) к мучнистой росе *Erysiphe necator* в сорте винограда «Chardonnay» [23], а knockdown MLO (Mildew Locus O) генов способствовал уменьшению чувствительности к данному патогену [24].

Все бóльший интерес исследователей привлекают эпигенетические процессы, модулирующие повторяющиеся процессы деления клеток. В том числе в культуре *in vitro*, при микрклональном размножении, каллусогенезе, трансформации и регенерации растений, специализации клеток в процессе развития тканей и органов и связанные с этим модификации хроматина. Для характеристики метилома предназначена технология иммуно-преципитации метилированной ДНК (Methylated DNA immunoprecipitation-sequencing MeDIP-seq). Сочетание данного подхода с оценкой изменений транскриптома (RNA-SEQ) позволяет глубже понять регуляторные особенности изучаемого процесса. Целый ряд исследований, в том числе на многолетних древесных растениях, демонстрирует вовлечение микро-РНК (miRNAs), коротких некодирующих РНК (non-coding short RNAs) в регуляцию различных физиологических процессов. Эти последовательности могут быть идентифицированы с помощью секвенирования РНК библиотеки, например, при развитии плодов груши в сравнении микро-РНК *in silico*, известных для других видов [25].

ПРИВЛЕЧЕНИЕ ДИКИХ СОРОДИЧЕЙ ДЛЯ СОЗДАНИЯ СОРТОВ МНОГОЛЕТНИХ КУЛЬТУР НА ОСНОВЕ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Согласно ФАО [Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017], для производства продовольствия многолетние культуры занимают около одной восьмой всех мировых площадей. Несмотря на зарегистрированные многие тысячи культурных сортов плодовых, косточковых, винограда и других в широком

коммерческом использовании повсеместно представлены немногие десятки так называемых элитных сортов. Соответственно, они составляют очень незначительную долю общего генетического разнообразия соответствующих видов. Так, геномный анализ на основе Vitis9kSNParray 950 представителей USDA коллекции *vinifera* выявил, что примерно 75% образцов имеют родственные отношения (first-degree relationships), по крайней мере, с каким-нибудь из анализированных сортов [26]. Таким образом, хотя domestикация не снизила уровень генетического разнообразия культурного винограда благодаря вегетативному размножению и высокой гетерозиготности, это разнообразие поддерживалось внутри отношений родословных небольшого количества элитных сортов. Более того, многие известные сорта являются результатом отбора изслучайных потомков неконтролируемого естественного переопыления [27]. При этом традиционная эксплуатация плодовых насаждений в течение ряда десятилетий повышает экономические и экологические риски вследствие отсутствия у многих культурных представителей устойчивости к болезням и вредителям. Даже при определённой устойчивости некоторых культурных представителей к тем или иным патогенам, появляются новые эволюционирующие штаммы, преодолевающие эту зачастую штамм-специфическую устойчивость сортов. Следовательно, культурные представители в большинстве случаев не обладают определенными 'желаемыми признаками', в то время как дикие сородичи являются носителями таковых. В этом контексте дикие сородичи культурных растений приобретают все бóльшую значимость в предоставлении генетического разнообразия признаков интереса при создании культурных сортов, отвечающих современным экономическим и экологическим требованиям – устойчивость к болезням и вредителям, качественные характеристики, материал для подвоев[4].

Создание сорта многолетних растений включает оценку и отбор родительских образцов, ряд скрещиваний, выращивание полученного гибридного материала, оценку и отбор саженцев на ювенильной стадии. Эта экономически затратная и продолжительная по времени стадия занимает 6-8 и более лет. Для выявления количественных признаков (QTL), ассоциированных, например, с устойчивостью к деструктивным патогенам и ускорения оценки гибридных популяций, могут быть применимы: селекция (Selection with Markers and Advanced Reproductive Technologies, SMART breeding), основанная на использовании молекулярных маркеров (MAS) и геномная селекция (GS). Оба подхода базируются на ассоциациях 'маркер-признак' и используются для реализации селекционного отбора. В первом случае индивидуальные линии отбираются, основываясь на локусах количественных признаков (QTL), которые выявлены ранее на основе картирования (linkage mapping, LM). MAS, используя генетические маркеры, позволяет отбирать индивидуумы на уровне семян и/или проростков, с большой вероятностью обладающие признаком/ми интереса, не ожидая (многие годы) достижения растениями генеративного состояния. Оценка различных схем MAS диагностик на стадии семян/проростков (marker-assisted seedling selection, MASS) позволяет разрабатывать экономически эффективные сценарии интегрирования тестирования на уровне ДНК в традиционные селекционные схемы и операции [28]. По результатам оценки авторами сценариев на основе MASS, операционные затраты в первые 6-8 лет могут быть снижены до 43% (Efficiency Calculator version 1.0.). Селекционеры винограда и яблони, по представлению разработчиков версии, имеют значительную гибкость при выборе на каком этапе ювенильной стадии осуществлять MASS.

Модели геномной селекции (GS) основаны на десятках тысяч SNPs, распределенных по всему геному. NGS технологии являются альтернативой microarray, поскольку не требуют предварительного создания маркеров для генотипирования и, соответственно, гибридизации ДНК с предварительно созданными пробами. Разрешающая способность GS выше, чем MAS на все оцениваемые признаки, при этом MAS применима в случаях моногенных, Менделевских признаков и ограничена в случаях признаков, находящихся под сложным генетическим контролем [29]. Использование (Genome-Wide Association Studies, GWAS) подхода для анализа одной и той же популяции показывает, что локализация расположения маркеров по всему геному более эффективно в выявлении их ассоциаций с фенотипической вариабельностью, чем одиночные маркеры [30]. Так, изучение геномных ассоциаций, генотипированных с помощью 8KSNP матрицы, позволило выявить относительный вклад различных геномных областей в проявление ряда признаков, характеризующих качество плодов яблони. Но все же во многих случаях для картирования полученных в эксперименте последовательностей ДНК и идентификации SNPs для ассоциативного картирования используется референсный геном [4]. Но к настоящему моменту референсные геномы диких видов отсутствуют при очевидной их необходимости для геном-ассоциированной селекции. С одной стороны, по представлению исследователей, создание современных сортов многолетних растений с использованием биоразнообразия диких сородичей находится еще на ранней стадии [27], с другой, дальнейшее использование возможно и обусловлено только сохранением и фенотипической и генотипической оценкой этого биоразнообразия.

Картирование поколений потомства одной семьи, сегрегирующих по тем или иным признакам, было использовано в ряде исследований плодовых для определения геномных интервалов, контролирующих или влияющих на специфические признаки. Однако лишь для «горстки» генов была подтверждена их роль в контроле определенных признаков интереса, в значительной степени вследствие 'количественной природы многих признаков' (QTL), а также проблем разрешающей способности картирования при небольшом количестве потомков [31]. Комбинируя MAS и GWAS, SNP генотипирование с использованием Illumina HiSeq 2000/2500 sequencing платформы, этим исследователям удалось подтвердить установленные ранее интервалы локуса количественного признака (QTL) устойчивости к вирусу (PlumPoxVirus) абрикоса (*Prunus armeniaca*) и выявить другие потенциальные локусы устойчивости, на основе чего определить набор кандидатов для

дальнейшего изучения. Следует упомянуть преимущества вида *Prunus armeniaca*, которые, по мнению авторов, способствовали достижению результатов: это диплоид с небольшим геномом, опыляющийся перекрестно, и поэтому высоко гетерозиготный, гермоплазма эколого-географически богато представлена в Центральной Азии и Китае, и может быть полезна для изучения генетической адаптации. STRUCTURE анализ кластеризации позволил заключить, что в эволюционном аспекте интрогрессия устойчивости в селекционный материал абрикоса произошла недавно из общего источника. Значимость подобных исследований обусловлена фактом, что вирус присутствует в Северной и Южной Америке, распространяется в Европе, появился на Кавказе и в Казахстане, Китае и Японии. При наличии широкого географического представительства биоразнообразия данного вида, для представителей которого доступны фенотипические данные по признакам интереса, ассоциативное картирование может представлять особый интерес и преимущества. Более того, области последовательностей генома абрикоса коллинеарны с таковыми персика (*Prunus persica*), позволяя структурировать совпадения последовательностей по всему геному и транслировать информацию по маркерам признаков от одного вида к другому.

УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ

Устойчивость к патогенам, возможно, является одним из наиболее экономически и экологически значимых признаков для агрокультуры плодовых растений. Различные типы патогенов: грибы, оомицеты, бактерии, вирусы – обладают различными механизмами, стратегиями инфицирования и инвазии [32]. В процессе эволюции растения выработали механизмы, позволяющие адаптироваться к биотическим стрессовым факторам среды. Реакции растения на патоген реализуются через сложную сеть передачи сигналов, обуславливая соответствующие изменения на молекулярном (транскрипционном), биохимическом и физиологическом уровнях. Исследователи сформулировали две стратегии или две формы защиты растительных организмов от патогенов [33]. Первая, скорее неспецифическая (pattern-triggered immunity, PTI), на уровне внешних барьеров предотвращает инвазию; вторая (effector-triggered immunity, ETI) индуцирует ответ на эффектор определенного патогена гибель пораженных клеток, ограничивая дальнейший рост, развитие и распространение патогена по тканям и органам растения. Более того, эти формы могут взаимодействовать через посредство регуляторных факторов, гормональных сигналов и метаболических путей, переключая в конечном итоге систему роста растения на иммунную защиту [34]. Адаптивные ответы, опосредованные факторами транскрипции, проявляются изменяющимися профилями экспрессии тех или иных генов. Например, WRKY белки, являясь важными факторами транскрипции, широко представлены в растительном царстве и выявлены во всех секвенированных геномах [12]. Во множестве исследований установлено, что члены этого мультигенного семейства вовлечены в ответные реакции растительных организмов на биотические стрессы и являются центральными компонентами врожденной иммунной системы растений. Многочисленные эксперименты выявили, что механизм устойчивости растений к патогенам во многих случаях ‘запускается’ посредством одного гена (моногенный признак), что объясняет успешность применения MAS для выявления и интрогрессии локусов устойчивости в различных видах растений. Это подтверждает анализ использования MAS в исследованиях с 1995 по 2012 годы, три четверти которых были сфокусированы на устойчивости к болезням и вредителям [35]. Поскольку виноград (*Vitis vinifera*) и яблоня (*Malus domestica*) являются наиболее экономически значимыми и старейшими древесными плодово-ягодными культурами, ниже приведен краткий перечень исследований, иллюстрирующих выявление в диких сородичах генов устойчивости к патогенам и их интродукции в культурные сорта.

ГЕНЫ УСТОЙЧИВОСТИ ВИНОГРАДА К ПАТОГЕНАМ

Согласно [4], в древесных видах наиболее успешны результаты по интрогрессии носителей устойчивости к патогенам из диких представителей винограда в культурные сорта. Признаки устойчивости винограда к ложной мучнистой росе (*Plasmopara viticola*), мучнистой росе (*Erysiphe necator*) и болезни Пирса – бактериозу винограда (*Xylella fastidiosa*) являются моногенными, что позволяет эффективно привлекать в селекционный процесс MAS подход. Оомицет *P. viticola* (ложная мучнистая роса, ЛМР) впервые был обнаружен на северо-востоке США. В середине 19-го века на посадочном материале патоген был завезен в Европу. Согласно фенотипическим оценкам 1970-х годов, отдельные местные культурные сорта Центральной Азии и Китая, а также европейские гибриды с амурским виноградом проявляли устойчивость к ЛМР и мучнистой росе (МР) [36]. Представители диких видов: *V. riparia*, *V. cinerea*, *V. labrusca*, *V. rupestris*, *V. berlandieri*, *V. lincecumii* и *Muscadinia rotundifolia* проявляли различные уровни устойчивости к ЛМР и могут являться источниками устойчивости при скрещивании с ними сортов *V. vinifera* [37]. Морфологическая и микроскопическая оценка позволила дифференцировать 5 уровней устойчивости/чувствительности к ЛМР представителей винограда: три сорта *V. rotundifolia* были иммунны к болезни; чрезвычайно устойчивым оказался *V. pseudoreticulata* ‘1057/1058’; *V. amurensis* ‘Shuanghong’ и *V. adenoclada*, *V. adstricta*, *V. bellula*, *V. ficifolia*, *V. Hancockii* и *V. quinquangularis* показали среднюю устойчивость; пять сортов *V. amurensis* ‘Changbaijiu’, ‘Shuangfeng’, ‘Shuangyou’, ‘Tonghuasan’ и ‘Zuoshanyi’ были классифицированы как частично устойчивые и четыре сорта *V. vinifera* (‘Cabernet Sauvignon’, ‘Chardonnay’, ‘Thompson Seedless’ и ‘Yatomi Rosa’) как чувствительные [37]. В первых двух группах отчетливо проявлялся гиперчувствительный ответ (HR), что по определению исследователей может

быть ключевым механизмом устойчивости против ЛМР. Локусы количественных признаков (QTL) со значимыми эффектами устойчивости к *P. viticola* были названы 'Resistanceto*P. viticola* (Rpv)'. Вид *M. rotundifolia* является источником Rpv1, локализованного на хромосоме 12 [38]. Два QTLs устойчивости были картированы в группах сцепления 9 и 12 популяции F1 *V. Vinifera***V. riparia* [39]. Исследователи относят *V. riparia* к одному из основных источников устойчивости к *P. viticola*. Локусы с высоким эффектом устойчивости идентифицированы в группе сцепления 7 (ГС7) наряду с дополнительными в ГС 8, 12 и 17 в F1 популяциях межвидовых гибридов *V. vinifera***V. riparia*, а 'VRH3082 1-42' и 'SK77 5/3' с признаками устойчивости последних, унаследованными от *V. rotundifolia***V. amurensis* (восточноазиатского вида), соответственно [40]. Локус Rpv3, локализованный на коротком плече хромосомы 18, выявлен в сорте 'Bianca', имеющего в своей родословной *V. aestivalis*, *V. berlandieri*, *V. cinerea*, *V. lincecumii* и *V. rupestris* [41]. Rpv3 рассматривается исследователями как один из основных детерминантов устойчивости к ЛМР. Дополнительные минорные локусы выявлены на хромосоме 7 и на хромосоме 5. Генотипирование 265 европейских сортов, 82 образцов диких видов и 233 североамериканских линий выявило 7 гаплотипов локуса Rpv3, что является результатом 150-летней селекции [42]. Анализ F1-популяции от скрещивания линии Gf.Ga-52-42 и сорта 'Solaris', а также потомства GF.GA-47-42 ('Bacchus'×'Seyval')×'Villardblanc' позволил выявить на устойчивость к ЛМР два главных количественных признака в группах сцепления 18 и 9 [43, 44]. Первый был идентичен ранее описанному Rpv3. Локус в ГС9 (в 'Solaris' из *V. amurensis*) был назван Rpv10. Субпопуляция, несущая Rpv3 и Rpv10 локусы, проявляла более существенный уровень устойчивости, указывая на аддитивный эффект пирамидирования генов. QTL Rpv8 выявлен в ГС 14 вида *V. amurensis* [45]; в ГС 4 и ГС18 в сорте 'Regent' (сорт *V. vinifera**межвидовой франко-американский гибрид *Chambourcin*) [46]. Анализ QTL выявил на хромосоме 14 доминантный ген Rpv12, наследуемый независимо от других генов устойчивости [47]. На основе фенотипической селекции в результате гибридизации область генома Rpv12 была пирамидирована с Rpv3 с аддитивным эффектом в результате. В целом, изучение генома показало, что собственно гены устойчивости, а также гены, вовлекаемые в процессы защиты от *P. viticola*, локализованы в представителях дикого винограда на хромосомах 5, 7, 9, 12, 13, 14, 18 и 19.

Аскомицет *Erysiphe necator* (*Uncinula necator*) – возбудитель мучнистой росы (МР), также происходит из Северной Америки и наряду с *P. viticola* в настоящее время имеет мировое распространение во всех регионах возделывания культуры, нанося серьезный экономический и экологический ущерб. В *M. rotundifolia* в группе сцепления 12 был картирован ген устойчивости к мучнистой росе Run1. Исследователи показали связь Run1/Rpv1 в области устойчивости на хромосоме 12 [48]. При естественном или искусственном заражении представителей *V. vinifera* центрально-азиатских сортов Кишмиш ваткана и Нимранг гистологический анализ показал, что после проникновения патогена в клетки обоих сортов, в Кишмиш ваткана дальнейшее развитие его ингибировалось [49]. Анализ сегрегирующей популяции Кишмиш ваткана×Нимранг с использованием 195 SSR маркеров позволил исследователям впервые выявить доминантный аллель устойчивости у культурных представителей *V. vinifera* в группе сцепления 13, названный 'Resistanceto*E. necator* 1' (REN1). Хотя рост гифов и споруляция при наличии REN1 были выше, чем при Run1, но все же эти проявления были гораздо слабее, чем в чувствительных сортах *V. vinifera*. Помимо сорта Кишмиш ваткана, REN1 был выявлен также в центрально-азиатском сорте Джанджал кара [50]. Признак в обоих сортах является моногенным, расположен на одной хромосоме в положении, отличном от такового Run 1 североамериканских источников. При анализе сегрегирующих популяций *V. vinifera*×*V. romanetii* на устойчивость к МР выявлен новый доминантный локус устойчивости к *E. necator* Ren4, обуславливающий существенное снижение проникновения патогена [51]. По представлению авторов, Ren4 является источником экстремальной и быстрой расо-неспецифичной устойчивости от *V. romanetii* и подобный механизм не был описан ранее в семействе Vitaceae. На основе созданной генетической карты потомства самоопыления S1 *M. rotundifolia* сорта 'Regale' в ГС14 впервые был выявлен локус устойчивости к *E. necator* Ren5 [52]. Примечательно, что Ren5 находится в доверительном интервале Rpv8, количественного признака устойчивости к ЛМР из *V. amurensis* [45]. Используя потомство GF.GA-47-42 ('Bacchus'×'Seyval')×'Villardblanc', локус устойчивости к мучнистой росе был идентифицирован на хромосоме 15 [44]. Интересно, что этот признак был «заменен» новым QTL на хромосоме 18 при ненормально высоких температурах двух сезонов. В дальнейшем эти QTL функционировали совместно. Согласно [33], в представителях видов винограда к настоящему времени выявлены главные локусы устойчивости к *Erysiphe necator*: RUN1, RUN2, REN1, REN2, REN3, REN4, REN5, REN6, REN7.

Вредитель винограда, мелкое насекомое филлоксеры (*Daktulosphaira vitifoliae*), обитающее на корнях растения, так же, как и возбудители мучнистой и ложной мучнистой росы, завезен на посадочном материале из Северной Америки и широко распространился по миру, нанося огромный экономический ущерб отрасли. Создание и анализ сегрегирующей популяции V3125 (*V. vinifera* ssp. *vinifera* 'Schiava grossa'×'Riesling')×'Börner' (*V. riparia* Gm183×*V. cinerea* 'Arnold') позволили исследователям локализовать локус устойчивости к филлоксере из *V. cinerea* 'Arnold' в группе сцепления 13; два из 6-ти, тесно связанных с признаком интереса разработанных микросателлитов, предложены для использования в селекционном процессе [53]. Бактериоз винограда (болезнь Пирса) в регионах распространения патогена *X. fastidiosus* определяет серьезные убытки отрасли. Формы b43-17 и b40-14 дикого вида *V. arizonica*, устойчивые к болезни Пирса, были использованы в качестве донора признака устойчивости в скрещиваниях с *V. vinifera* [54]. Устойчивость была генетически картирована на хромосоме 14 в локусе PdR1. MAS на основе двух тесно сцепленных с признаком SSR маркеров позволила из 4360 семян BC4 (backcross4, 97% *V. vinifera*) популяции выявить 2000 устойчивых образцов, тестируемых ежегодно инокуляцией патогена и выращенных до стадии коммерциализации.

УСТОЙЧИВОСТЬ К ПАТОГЕНАМ ЯБЛОНИ

Парша яблони, вызываемая сумчатым грибом *Venturia inaequalis* широко распространенная в умеренном климате в районах с прохладной влажной весной, вследствие повреждений на листьях и плодах заметно снижает урожайность и качество плодов. Большинство культурных сортов к парше неустойчивы, а существующие устойчивые были получены интродукцией признака, обозначаемого как Vf, из *Malus floribunda* 821 [54]. При этом исследователи отмечают, что новые пототипы парши преодолевают устойчивость, обусловленную Vf. Было идентифицировано и картировано 16 основных R-генов, клонированы Rvi6 (Vf) и Rvi15 (Vr2) [55]. Используя технику GS и MAS, исследователи осуществили скрининг 17 хромосом, а также картирование отдельных маркеров в 6-ти F1 и F2 сегрегирующих популяциях с участием сорта яблони 'Geneva', признанным источником устойчивости к парше, и выявили, по крайней мере, 5 локусов в GC4, коррелирующих с устойчивостью к патогену [56]. Область 5-сМ, несущая эти локусы, соответствовала на физической карте 9-ти кандидатам генов устойчивости (nucleotide-binding site leucine-rich repeat proteins, NBS-LRR). По определению исследователей, полученные результаты способствуют более глубокому пониманию сложной генетической основы взаимодействий между генами эффектора патогена и генами, обеспечивающими ответ устойчивого сорта. Шесть молекулярных маркеров были испытаны на выявление генов Vf, Vm, Vbj, VriVh устойчивости к парше в 279 образцах коллекции яблонь Чехии [57]. Соответствующий маркер в 39 сортах выявил ген устойчивости Vf, в том числе в трех сортах ('Malus Evereste', 'Golden Gem' и 'Hilleri') с мелкими плодами. Маркеры на гены устойчивости VriVh в комбинации с маркером на Vf, были выявлены в 22 сортах. Маркеры на Vmi Vbj не выявили соответствующих генов ни в одном сорте. В семи сортах коллекции, из них четырех малоплодных, с помощью трех молекулярных маркеров были выявлены один или два гена устойчивости к мучнистой росе. Цитируются несколько генов устойчивости из азиатских диких яблонь: Vbj из *Malus baccata* Jackii, Vbi из *M. baccata*, Vmi из *M. x micromalusi* M. xatrosanguinea 804, Vr из *M. pumila* (российский саженец R12740-7A, Vf из *M. x floribunda* 812.

Исследователи предположили, что повышение степени и продолжительности устойчивости к патогену должно быть более надежным, если пирамидировать несколько количественных признаков, коррелирующих с устойчивостью на разных стадиях развития патогена [58]. Была оценена эффективность влияния 3-х количественных признаков устойчивости (QRLs) на стадиях развития 10-ти изолятов *V. inaequalis*: до преодоления кутикулярного барьера, после проникновения на стадии гиперчувствительного ответа и на стадии колонизации и асексуальной репродукции. Пирамидирование QRLs повышало сопротивляемость развитию патогена на всех стадиях, хотя степень эффективности зависела от изолята. Таким образом, комбинация различных и взаимодействующих молекулярных механизмов может обеспечить пролонгирование устойчивости. Селекция с использованием молекулярных маркеров дает многообещающую возможность не только пирамидировать гены устойчивости к одному патогену, что гарантирует долговременную устойчивость, но и интегрировать в генотип гены устойчивости к нескольким патогенам [59]. Как упоминалось выше, необходимой предпосылкой для данного направления является предварительное выявление и создание молекулярных маркеров, ассоциированных с генами устойчивости. Затем необходимо интегрировать по одной копии всех генов интереса в одном генотипе, после этого следует этап фиксации всех этих генов в гомозиготном состоянии [60]. Используя эту стратегию, впервые удалось получить элитные линии яблони, не только несущие три различных гена (Rvi6, Rvi2 и Rvi4) устойчивости к парше *V. inaequalis*, но и гены устойчивости к мучнистой росе (*Podospaera leucotricha*) и QTLFBF7 к бактериальному ожогу (*Erwinia amylovora*) [59]. Три линии, полученные через 7 лет после первых скрещиваний и обладающие высокими характеристиками плодов, в свою очередь, используются в качестве элитных родителей в дальнейшей гибридизации. Бактериальный ожог, вызываемый *E. amylovora*, относят к одной из экономически значимых болезней представителей семейства Rosaceae. Наиболее эффективным традиционным контролем противодействия поражению (растение может погибнуть в течение одного сезона) является прививка культурных сортов на устойчивые к патогену подвои. В сегрегирующей популяции, полученной от скрещивания чувствительного сорта 'Idared' и клона устойчивого вида *M. robusta* 5 были выявлены аллели в GC3, ассоциированные с устойчивостью к бактериальному ожогу и происходящие от дикого донора [61]. Поскольку высокий процент фенотипической вариации был обусловлен интервалом между двумя SSRs, это указывало на наличие основного гена устойчивости, картированного на расстоянии 9 сМ от одного из маркеров. Так как создание и использование ГМО в Европейском Союзе строго регламентировано, внедрение генов устойчивости к патогенам в культурные сорта реализуется в последнее десятилетие на основе цисгенеза (cisgenesis), что подразумевает генетическую модификацию с использованием генов устойчивости, содержащих нативные промоторы и терминаторы, присущие донору в надлежащей смысловой ориентации [62]. Так, устойчивая к бактериальному ожогу цисгенная линия яблони C44.4.146, несущая цисген FB_MR5 из дикой яблони *M. robusta* 5, была получена с применением агробактериальной трансформации [63]. Агробактериальная трансформация была осуществлена с использованием бинарного вектора p9-*Dao*-FLPi [64], позволяющего осуществить пост-трансформационное элиминирование кассеты с тремя трансгенами рекомбиназой, индуцированной heat-шоком. В потомках, полученных классической селекцией, транскрипция FB_MR5 была подобна таковой в линии C44.4.146. Таким образом, получен первый прототип цисгенной яблони, устойчивый к

бактериальному ожогу, хотя исследователи не исключают возможности преодоления устойчивости патогеном вследствие мутации одного нуклеотида.

Грибковый патоген культурной яблони мучнистая роса *Podosphaera leucotricha* также, как и *V. inaequalis*, требует в течение сезона многократных обработок фунгицидами. При высоком поражении листья сворачиваются, плоды коричневеют. Несколько генов устойчивости к патогену были найдены в мелкоплодных азиатских видах яблонь, например, *M. robusta* и *M. zumi*. Гены были картированы в группах сцепления: *Pl-ми Pl-2* в GC 11, *Pl-dv* GC12 и *Pl-wb* GC8 [65]. Для анализа дифференциальной экспрессии генов была использована популяция из 49 F1 индивидуумов, полученных от скрещивания родителей, фенотипически различающихся по устойчивости к бактериальному ожогу, мучнистой росе и (шерстистой) тле яблони [66]. Профайлинг транскриптома был осуществлен на основе 26 тыс. уникальных транскриптов. Были выявлены три относительно небольшие группы генов, ассоциированные с признаками интереса. Так, тридцать генов экспрессировались дифференциально между устойчивыми и чувствительными к мучнистой росе представителями, 24 из этих транскриптов были кластеризованы на хромосоме 12. Различные уровни экспрессии имели 7 генов, связанных с устойчивостью/чувствительностью к яблоневой тле, 5 из них кластеризовались на хромосоме 17. В обоих случаях кластеры генов находились в непосредственной близости с идентифицированными ранее областями соответствующих признаков. На основе выявленных дифференциально экспрессируемых генов разработаны маркеры, ассоциированные с устойчивостью к мучнистой росе и яблоневой тле. Полученные результаты, по убеждению авторов, подтверждают эффективность данного подхода для представителей со сложной генетикой и при малых ресурсах информации.

Финансирование

Работа выполнена в рамках научно-технической программы 0237/ПЦФ «Изучение генетического разнообразия и сохранение генетических ресурсов эндемичных, редких и хозяйственно ценных видов растений в Республике Казахстан».

ЛИТЕРАТУРА

1. Nocker S., Gardiner S.E. Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops // *Horticulture Research*. – 2014. – Vol. 1: 14022. – 8 pp.
2. Badenes M.L., Fernandez Marti A., Rios G., Rubio-Cabetas M.J. Application of Genomic Technologies to the Breeding of Trees // *Frontiers in Genetics*. – 2016. – Vol. 7: 198.
3. Larranaga N. and Hormaza J.I. Advances in genetic diversity analysis in fruit trees crops // *In Progress in botany 77* / Edds U. Luttge, F.M. Canovas, R. Mattyssek. – 2016. – P. 245-264.
4. Migicovsky Z. and Myles S. Exploiting Wild Relatives for Genomics-assisted Breeding of Perennial Crops // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8. – Article 460.
5. Verde I., Bassil N., Scalabrin S., Gilmore B., Lawley C.T., Gasic K. et al. Development and evaluation of a 9K SNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation in breeding germplasm // *PLoS ONE*. – 2012. – 7: e35668.
6. Chagne D., Crowhurst R.N., Troggio M., Davey M.W., Gilmore B., Lawley C., et al. Genome-wide SNP detection, validation, and development of an 8K SNP array for apple // *PLoS ONE*. – 2012. – 7: e31745.
7. Li X., Kui L., Zhang J., Xie Y., Wang L., Yan Y., et al. Improved hybrid de novo genome assembly of domesticated apple (*Malus x domestica*) // *GigaScience*. – 2016. – Vol. 5: 35.
8. Bielsa B., Jiwan D., Fernandez Marti A., Dhingra A., Rubio-Cabetas M.J. Detection of SNP and validation of a SFP in Del (deletion) in inverted repeat region of the *Prunus* species chloroplast genome // *Sci. Hortic.* – 2014. – Vol. 168. – P. 108-112.
9. Hill T.A., Ashrafi H., Reyes-Chin-Wo S., Yao J., Stoffel K., Truco M.-J., et al. Characterization of *Capsicum annuum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30K unigenic pepper gene chip // *PLoS ONE*. – 2013. – 8: e56200.
10. Ward J., Bhangoo J., Fernandez-Fernandez F., Moore P., Swanson J., Viola R., Velasco R., et al. Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using genotyping by sequencing and genome independent imputation // *BMC Genomics*. – 2013. – 14: 2.
11. Gardner K., Brown P.J., Cooke T.F., Cann S., Costa F., Bustamante C., Velasco R., et al. Fast and cost-effective genetic mapping in apple using next-generation sequencing // *G3 (Bethesda)*. – 2014. – Vol. 4(9). – P. 1681-7.
12. Zhang S., Chen W., Xin L., Gao Z., Hou Y., Yu X., Zhang Z., Qu S. Genomic variants of genes associated with three horticultural traits in apple revealed by genome re-sequencing // *Horticulture Research*. – 2014. – 1: 14045.
13. Bai T., Zhu Y., Fernandez-Fernandez F., Keulemans J., Brown S., Xu K. Fine genetic mapping of the *Colococcus* controlling columnar growth habit in apple // *Mol. Genet. Genomics*. – 2012. – Vol. 287. – P. 437-450.
14. Otto D., Peterson R., Braukseipe B., Braun P., Schmidt E.R. The columnar mutation (“Cogene”) of apple (*Malus domestica*) is associated with an integration of a Gypsy-like retrotransposon // *Mol. Breed.* – 2014. – Vol. 33. – P. 863-880.
15. Wolters P.J., Schouten H.J., Velasco R., Si-Ammour A., Baldi P. Evidence for regulation of columnar habit in apple by a putative 2OG-Fe(II) oxygenase // *New Phytol.* – 2013. – Vol. 200. – P. 993-999.

16. Wang M., Vannozzi A., Wang G., et al. Genome and transcriptome analysis of the grapevine (*Vitis vinifera* L.) WRKY gene family// Horticulture Research. – 2014. – Vol. 1:14016.
17. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics // Nat Rev Genet. – 2009. – Vol. 10. – P. 57-63.
18. Bai Y., Dougherty L., Xu K. Towards an improved apple reference transcriptome using // Mol Genet Genomics.– 2014.– Vol. 289. – P. 427-438.
19. Polesani M., Bortesi L., Ferrarini A., et al. General and species-specific transcriptional responses to downy mildew infection in a susceptible (*Vitis vinifera*) and a resistant (*V. riparia*) grapevine species // BMCgenomics. – 2010. – Vol. 11:117.
20. Jiao C., Gao M., Wang X., Fei Zh. Transcriptome characterization of three wild Chinese *Vitis* uncovers a large number of distinct disease related genes // BMC Genomics. – 2015. –Vol.16:223.
21. Rani R., Yadav P., Kalyani M., Barbadikar B., Baliyan N., Malhotra E.V., et al. CRISPR/Cas9: a promising way to exploit genetic variation in plants // Biotechnol. Lett.– 2016.– Vol. 38.– P. 1991-2006.
22. WooJ.W., KimJ., KwonS.I.,CorvalánC.,et al. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins// Nature Biotechnology. – 2015.– Vol. 33.– P. 1162-1164.
23. Barba P., Cadle-Davidson L., Harriman J., Glaubitz J., Brooks S., Hyma K. et al. Grapevine powdery mildew resistance and susceptibility loci identified on a high-resolution SNP map // Theor Appl Genet.– 2014. – Vol.127. – P. 73-84.
24. Pessina S., Lenzi L., Perazzolli M., Campa M., Dalla L. et al. Knockdown of MLO genes reduces susceptibility to powdery mildew in grapevine// Horticulture Research. – 2016. – Vol.3, 16016.
25. Wu J., Wang D., Liu Y., Wang L., Qiao X., and Zhang S. Identification of miRNAs involved in pearfruit development and quality //BMC Genomics. – 2014. – 15:953.
26. Myles S., Boyko A.R., OwensC.L. et al. Genetic structure and domestication history of the grape//PNAS.– 2011 –Vol.108. –P.3530-3535.
27. McClure K.A., Sawler J., Gardner K.M., Money D., Myles S. Genomics: A Potential Panacea for the Perennial Problem// American Journal of Botany. –2014. –Vol.101. –P. 1780-1790.
28. Edge-Garza D.A., Luby J.J., Peace C. Decision support for cost efficient and logistically feasible marker-assisted seedling selection in fruit breeding // Mol. Breed.– 2015. – 35, 223.– 15 pp.
29. Arruda M.P., Lipka A.E., Brown P.J., Krill A. M., Thurber C., Brown-Guedira G., Dong Y., Foresman B.J., Kolb F.L. Comparing genomic selection and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.)// Mol Breeding.–2016.–Vol.36:84.
30. Kumar S., Garrick D., Bink M., Whitworth C., Chagne D., Volz R. Novel genomic approaches unravel genetic architecture of complex traits in apple // BMC Genomics.–2013.– 14: 393.
31. Mariette S., Tai W.J.F.,Roch G.,Barre A.,et al. Genome-wide association links candidate genes to resistance to Plum Pox Virus in apricot (*Prunus armeniaca*) // New Phytol.– 2016. – Vol. 209. – P. 773-784.
32. Armijo G., Schlechter R., Agurto M., Munoz D., Nunez C., Arce-Johnson P.Grapevine Pathogenic Microorganisms: Understanding Infection Strategies and Host Response Scenarios //Frontiers in Plant Science //www.frontiersin.orgREVIEW.– 2016.doi: 10.3389/fpls.2016.00382.
33. Qiu W., Feechan A., Dry I. Current understanding of grapevine defense mechanismsagainst the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causalagent of powdery mildew disease // Horticulture Research. – 2015. –Vol. 2. – 15020.
34. Dodds P.N. and Rathjen J.P. Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions // Nature Reviews Genetics. – 2010. – Vol. 11. – P. 539-548.
35. Brumlop S., Reichenbecher W., Tappeser B., Finckh, M.R. What is the SMARTest way to breed plants and increase agrobiodiversity? // Euphytica. – 2013. – Vol. 194. – P. 53-66.
36. Стин Л.Т., Филиппенко М. Наследование устойчивости к ложной мучнистой (*Plasmoparaviticola*) и мучнистой росе (*Uncinulanecator*) в европейско-амурских гибридах // Генетика. – 1974. – Т. 10. – С.37-44.
37. Yu Y., Zhang Y., Yin L., Lu J.The mode of host resistance to *Plasmopara viticola* infection of grapevines (*Vitis* L.) // Phytopathology. – 2012.– Vol. 102. – P.1094-1101.
38. Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty A., Butterlin G., Greif C. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia* // Acta Hort.– 2003.– Vol. 603. – P. 451-456.
39. Marguerit E., Boury C., Manicki A., et al. Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine // Theor Appl Genet.– 2009. – Vol. 118. – P. 1261-1278.
40. Moreira F.M., Madini A., Marino R., Zulini L., Stefanini M., Velasco R., Kozma P., Grando M.S. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance // Tree Genetics & Genomes. – 2011.–Vol. 7.– P. 153-167.
41. Bellin D., Peressotti E., Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Adam-Blondon A.-F., Cipriani G., Morgante M., et al. Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine ‘Bianca’ is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site // Theor Appl Genet.– 2009. – Vol. 120. – P. 163-176.
42. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., et al. Selective sweep at the Rpv3 locus during grapevine breeding for downy mildew resistance //Theor Appl Genet. – 2012. – Vol. 124. – P. 277-286.

43. Schwander F., Eibach R., Fechter I., Hausmann L., Zyprian E., Töpfer R. Rpv10: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine // *Theor Appl Genet.* – 2012. – Vol. 124. – P. 163-176.
44. Zyprian E., Ochßner I., Schwander F., et al. Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines // *Mol Genet Genomics.* – 2016. – Vol. 291. – P. 1573-1594.
45. Blasi P., Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Rühl E., Mestre P., Merdinoglu D. Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of *Rpv8*, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew // *Theor Appl Genet.* – 2011. – Vol. 123. – P. 43-53.
46. Welter L.J., Gokturk-Baydar N., Akkurt M., Maul E., Eibach R., Topfer R., Zyprian E.M. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L) // *Molecular Breeding.* – 2007. – Vol. 20. – P. 359-374.
47. Venuti S., Copetti D., Foria S., Falginella L., Hoffmann S., et al. Historical introgression of the downy mildew resistance gene *Rpv12* from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties // *PLOS ONE.* – 2013. – Vol. 8: e61228.
48. Barker C.L., Donald T., Pauquet J., Ratnaparkhe M.B., Bouquet A., Adam-Blondon A-F., Thomas M.R., Dry I. Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, *Run1*, using a bacterial artificial chromosome library // *Theor Appl Genet.* – 2005. – Vol. 111. – P. 370-377.
49. Coleman C., Copetti D., Cipriani G., Hoffmann S., Kozma P., Kovács L., Morgante M., Testolin R., Di Gaspero G. The powdery mildew resistance gene *REN1* co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines // *BMC Genet.* – 2009. – Vol. 10:89. – 20 p.
50. Hoffmann S., Di Gaspero G., Kovacs L., Howard S., Kiss E., Galbacs Z., Testolin R., Kozma P. Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine «Kishmish vatkana» is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth // *Theor Appl Genet.* – 2008. – Vol. 116. – P. 427-438.
51. Ramming D.W., Gabler F., Smilanick J., et al. Single Dominant Locus, *Ren4*, Confers Rapid Non-Race-Specific Resistance to Grapevine Powdery Mildew // *Phytopathology.* – 2011. – Vol. 101. – P. 502-508.
52. Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Dumas V., Mestre P., Merdinoglu D. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of *Ren5*, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew // *Theor Appl Genet.* – 2012. – Vol. 125. – P. 1663-1675.
53. Zhang J., Hausmann L., Eibach R., Welter L.J., Töpfer R., Zyprian E.M. A framework map from grapevine V3125 (*Vitis vinifera* 'Schiava grossa' x 'Riesling') x rootstock cultivar 'Börner' (*Vitis riparia* x *Vitis cinerea*) to localize genetic determinants of phylloxera root resistance // *Theor Appl Genet.* – 2009. – Vol. 119. – P. 1039-1051.
54. Walker M.A., Riaz S., Tentscher A. Optimizing the breeding of Pierce's disease resistant wine grapes with marker-assisted selection // *Acta Hort.* – 2014. – Vol. 1046. – P. 139-143.
55. Gessler C., Pertot I. Vf scab resistance of *Malus* // *Trees.* – 2012. – Vol. 26. – P. 95-108.
56. Bastiaanse H., Bassett H.C., Kirk C., et al. Scab resistance in 'Geneva' apple is conditioned by a resistance gene cluster with complex genetic control // *Molecular Plant Pathology.* – 2016. – Vol. 17. – P. 159-172.
57. Patzak J., Papršteinand F., Henychova A. Identification of Apple Scab and Powdery Mildew Resistance Genes in Czech Apple (*Malus domestica*) Genetic Resources by PCR Molecular Markers // *Czech J. Genet. Plant Breed.* – 2011. – Vol. 47. – P. 156-165.
58. Laloi G., Vergne E., Durel C.E., Le Cam B., Caffier V. Efficiency of pyramiding of three quantitative resistance loci to apple scab // *Plant Pathology.* – 2017. – Vol. 66. – P. 412-422.
59. 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 Rep.* – 2015. – Vol. 33. – P. 1573-1583.
60. Servin B., Martin O.C., Mézard M., Hospital F. Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding // *Genetics.* – 2004. – Vol. 168. – P. 513-523.
61. Peil A., Garcia-Libreros T., Richter K., Trognitz F.C., Trognitz B., Hanke M.V., et al. Strong evidence for a fire blight resistance gene of *Malus robusta* located on linkage group 3 // *Plant Breeding.* – 2007. – Vol. 126. – P. 470-475.
62. Schouten H.J., Krens F.A., Jacobsen E. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants—International regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis // *Embo Rep.* – 2006. – Vol. 7. – P. 750-753.
63. Kost T.D., Gessler C., Jansch M., Flachowsky H., Patocchi A., Brogini G.A.L. Development of the first cisgenic apple with increased resistance to fire blight // *PLoS ONE.* – 2015. – 10(12): e0143980.
64. Wurdig J., Flachowsky H., SaA., Peil A., Hanke M-V. Improving resistance of different apple cultivars using the *Rvi6* scab resistance gene in a cisgenic approach based on the Flp/FRT recombinase system // *Mol Breeding.* – 2015. – Vol. 35. – P. 1-18.
65. Bus V.G.M., Bassett H.C.M., Bowatte D., et al. Genome mapping of an apple scab, a powdery mildew and a woolly apple aphid resistance gene from open-pollinated Mildew Immune Selection // *Tree Genetics and Genomes.* – 2010. – Vol. 6. – P. 477-487.
66. Jensen P.J., Fazio G., Altman N., Praul C., McNellis T.W. Mapping in an apple (*Malus x domestica*) F1 segregating population based on physical clustering of differentially expressed genes // *BMC Genomics.* – 2014. – Vol. 15:261.

REFERENCES

1. Nocker S., Gardiner S.E. Breeding better cultivars, faster: applications of new technologies for the rapid deployment of superior horticultural tree crops. *Horticulture Research*, 2014, vol.1, Article 14022, 8 pp. doi:10.1038/hortres.2014.22.
2. Badenes M.L., Fernandez Marti A., Rios G., Rubio-Cabetas M.J. Application of Genomic Technologies to the Breeding of Trees. *Frontiers in Genetics*, 2016, vol. 7, Article 198. doi: 10.3389/fgene.2016.00198.
3. Larranaga N. and Hormaza J.I. Advances in genetic diversity analysis in fruit trees crops. In *Progress in Botany 77*. Edds U. Luttge, F.M. Canovas, R. Mattyssek, 2016, pp. 245-264. doi: 10.1007/978-3-319-25688-7_8.
4. Migicovsky Z. and Myles S. Exploiting Wild Relatives for Genomics-assisted Breeding of Perennial Crops. *Frontiers in Plant Science*, 2017, vol. 8, Article 460. doi:10.3389/fpls.2017.00460.
5. Verde I., Bassil N., Scalabrin S., et al. Development and evaluation of a9KSNP array for peach by internationally coordinated SNP detection and validation inbreeding germplasm. *PLoS ONE*, 2012, 7:e35668. doi:10.1371/journal.pone.0035668.
6. Chagne D., Crowhurst R.N., Troggio M., et al. Genome-wide SNP detection, validation, and development of an 8K SNP array for apple. *PLoS ONE*, 2012, 7:e31745. doi:10.1371/journal.pone.0031745.
7. Li X., Kui L., Zhang J., et al. Improved hybrid de novo genome assembly of domesticated apple (*Malus x domestica*). *GigaScience*, 2016, vol. 5:35. doi:10.1186/s13742-016-0139-0.
8. Bielsa B., Jiwan D., Fernandez Marti A., et al. Detection of SNP and validation of a SFP InDel (deletion) in inverted repeat region of the *Prunus* species chloroplast genome. *Sci.Hortic.*, 2014, vol. 168, pp. 108-112. doi:10.1016/j.scienta.2014.01.028.
9. Hill T.A., Ashrafi H., Reyes-Chin-Wo S., et al. Characterization of *Capsicum annuum* genetic diversity and population structure based on parallel polymorphism discovery with a 30Kunigene pepper genechip. *PLoS ONE*, 2013, 8:e56200. doi:10.1371/journal.pone.0056200.
10. Ward J., Bhangoo J., Fernandez-Fernandez F., et al. Saturated linkage map construction in *Rubus idaeus* using genotyping by sequencing and genome independent imputation. *BMC Genomics*, 2013, 14:2. doi:10.1186/1471-2164-14-2.
11. Gardner K., Brown P.J., Cooke T.F., et al. Fast and cost-effective genetic mapping in apple using next-generation sequencing. *G3 (Bethesda)*, 2014, vol. 4(9), pp.1681-1687. doi: 10.1534/g3.114.011023.
12. Zhang S., Chen W., Xin L., et al. Genomic variants of genes associated with three horticultural traits in apple revealed by genome re-sequencing. *Horticulture Research*, 2014, 1:14045. doi:10.1038/hortres.2014.45.
13. Bai T., Zhu Y., Fernandez-Fernandez F., et al. Fine genetic mapping of the *Colococcus* controlling columnar growth habit in apple. *Mol. Genet. Genomics*, 2012, vol. 287, pp. 437-450. doi:10.1007/s00438-012-0689-5.
14. Otto D., Peterson R., Braukseipe B., et al. The columnar mutation ("Cogene") of apple (*Malus domestica*) is associated with an integration of a Gypsy-like retrotransposon. *Mol. Breed.*, 2014, vol.33, pp. 863-880. doi: 10.1007/s11032-013-0001-3.
15. Wolters P.J., Schouten H.J., Velasco R., Si-Ammour A., Baldi P. Evidence for regulation of columnar habit in apple by a putative 2OG-Fe(II) oxygenase. *New Phytol.*, 2013, vol. 200, pp. 993-999. doi:10.1111/nph. 12580.
16. Wang M., Vannozzi A., Wang G., et al. Genome and transcriptome analysis of the grapevine (*Vitis vinifera* L.) WRKY gene family. *Horticulture Research*, 2014, vol.14016. doi: 10.1038/hortres.2014.16.
17. Wang Z., Gerstein M., Snyder M. RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nat Rev Genet.*, 2009, vol. 10(1), pp. 57-63. doi:10.1038/nrg2484.
18. Bai Y., Dougherty L., Xu K. Towards an improved apple reference transcriptome using. *Mol Genet Genomics*, 2014, vol. 289, pp. 427-438. doi: 10.1007/s00438-014-0819-3.
19. Polesani M., Bortesi L., Ferrarini A., et al. General and species-specific transcriptional responses to downy mildew infection in a susceptible (*Vitis vinifera*) and a resistant (*V. riparia*) grapevine species. *BMC Genomics*, 2010, 11:117. doi: 10.1186/1471-2164-11-117.
20. Jiao C., Gao M., Wang X., Fei Zh. Transcriptome characterization of three wild Chinese *Vitis* uncovers a large number of distinct disease related genes. *BMC Genomics*, 2015, 16:223. doi:10.1186/s12864-015-1442-3.
21. Rani R., Yadav P., Kalyani M., et al. CRISPR/Cas9: a promising way to exploit genetic variation in plants. *Biotechnol. Lett.*, 2016, vol. 38, pp. 1991-2006. doi:10.1007/s10529-016-2195-z.
22. Woo J.W., Kim J., Kwon S.I., et al. DNA-free genome editing in plants with preassembled CRISPR-Cas9 ribonucleoproteins. *Nature Biotechnology*, 2015, vol. 33, pp.1162-1164. doi:10.1038/nbt.3389.
23. Barba P., Cadle-Davidson L., Harriman J., et al. Grapevine powdery mildew resistance and susceptibility loci identified on a high-resolution SNP map. *Theor Appl Genet.*, 2014, vol. 127, pp. 73-84. doi: 10.1007/s00122-013-2202-x.
24. Pessina S., Lenzi L., Perazzolli M., et al. Knockdown of MLO genes reduces susceptibility to powdery mildew in grapevine. *Horticulture Research*, 2016, 3, 16016. doi:10.1038/hortres.2016.16.
25. Wu J., Wang D., Liu Y., Wang L., et al. Identification of miRNAs involved in pear fruit development and quality. *BMC Genomics*, 2014, 15:953. doi: 10.1186/1471-2164-15-953.

26. Myles S., Boyko A.R., Owens C.L. et al. Genetic structure and domestication history of the grape. *PNAS*, 2011, vol. 108, pp.3530-3535. www.pnas.org/lookup/suppl/doi:10.1073/pnas.1009363108/-/DCSupplemental.
27. McClure K.A., Sawler J., Gardner K.M., et al. Genomics: A Potential Panacea for the Perennial Problem. *American Journal of Botany*, 2014, vol.101, pp.1780-1790. doi: 10.3732/ajb.1400143.
28. Edge-Garza D.A., Luby J.J., Peace C. Decision support for cost efficient and logistically feasible marker-assisted seedling selection in fruit breeding. *Mol. Breed.*, 2015, 35:223, 15 pp. doi:10.1007/s11032-015-0409-z.
29. Arruda M.P., Lipka A.E., Brown P.J., et al. Comparing genomic selection and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Mol Breeding*, 2016,36:84. doi: 10.1007/s11032-016-0508-5.
30. Kumar S., Garrick D., Bink M., Whitworth C., et al. Novel genomic approaches unravel genetic architecture of complex traits in apple. *BMC Genomics*, 2013,14:393. doi:10.1186/1471-2164-14-393.
31. Mariette S., Tai W.J.F., Roch G., et al. Genome-wide association links candidate genes to resistance to Plum Pox Virus in apricot (*Prunus armeniaca*). *New Phytol.*, 2016, vol. 209, pp. 773-784. doi: 10.1111/nph.13627.
32. Armijo G., Schlechter R., Agurto M., et al. Grapevine Pathogenic Microorganisms: Understanding Infection Strategies and Host Response Scenarios. *Frontiers in Plant Science | www.frontiersin.org*REVIEW, 2016, 7:382. doi: 10.3389/fpls.2016.00382.
33. Qiu W., Feechan A., Dry I. Current understanding of grapevine defense mechanisms against the biotrophic fungus (*Erysiphe necator*), the causal agent of powdery mildew disease. *Horticulture Research*, 2015, vol. 2, 15020. doi:10.1038/hortres.2015.20.
34. Dodds P.N. and Rathjen J.P. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*, 2010, vol. 11, pp. 539-548. doi:10.1371/journal.pone.0143980.
35. Brumlop S., Reichenbecher W., Tappeser B., Finckh M.R. What is the SMARTest way to breed plants and increase agrobiodiversity? *Euphytica*, 2013, vol. 194, pp. 53-66. doi: 10.1007/s10681-013-0960-9.
36. Stin L.T., Fillipenko M. Inheritance of resistance to downy mildew (*Plasmopara viticola*) and powdery mildew (*Uncinula necator*) in European-Amur hybrids. *Genetics*, 1974, vol. 10, pp. 37-44. In russian
37. Yu Y., Zhang Y., Yin L., Lu J. The mode of host resistance to *Plasmopara viticola* infection of grapevines (*Vitis* L.). *Phytopathology*, 2012, vol. 102, pp.1094-1101. doi: 10.1094/PHYTO-02-12-0028-R.
38. Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Coste P., Dumas V., Haetty A., Butterlin G., Greif C. Genetic analysis of downy mildew resistance derived from *Muscadinia rotundifolia*. *Acta Hort.*, 2003, vol. 603, pp. 451-456. http://www.actahort.org/books/603/603_57.htm.
39. Marguerit E., Boury C., Manicki A., et al. Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theor Appl Genet*, 2009, vol. 118, pp. 1261-1278. doi: 10.1007/s00122-009-0979-4.
40. Moreira F.M., Madini A., Marino R., et al. Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for downy mildew resistance. *Tree Genetics & Genomes*, 2011, vol. 7, pp.153-167. doi: 10.1007/s11295-010-0322-x.
41. Bellin D., Peressotti E., Merdinoglu D., et al. Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theor Appl Genet.*, 2009, vol. 120, pp.163-176. doi: 10.1007/s00122-009-1167-2.
42. Di Gaspero G., Copetti D., Coleman C., et al. Selective sweep at the Rpv3 locus during grapevine breeding for downy mildew resistance. *Theor Appl Genet.*, 2012, vol. 124, pp. 277-286. doi: 10.1007/s00122-011-1703-8.
43. Schwander F., Eibach R., Fechter I., Hausmann L., Zyprian E., Töpfer R. Rpv10: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theor Appl Genet.*, 2012, vol. 124, pp. 163-176. doi: 10.1007/s00122-011-1695-4.
44. Zyprian E., Ochßner I., Schwander F., et al. Quantitative trait loci affecting pathogen resistance and ripening of grapevines. *Mol Genet Genomics*, 2016, vol. 291, pp.1573-1594. doi: 10.1007/s00438-016-1200-5.
45. Blasi P., Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., et al. Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of Rpv8, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theor Appl Genet.*, 2011, vol. 123, pp.43-53.
46. Welter L.J., Gokturk-Baydar N., Akkurt M., et al. Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding*, 2007, vol. 20, pp. 359-374. doi: 10.1007/s11032-007-9097-7.
47. Venuti S., Copetti D., Folia S., Falginella L., Hoffmann S., et al. Historical introgression of the downy mildew resistance gene Rpv12 from the Asian species *Vitis amurensis* into grapevine varieties. *PLOS ONE*, 2013, vol. 8, e61228. doi: 10.1371/journal.pone.0061228.
48. Barker C.L., Donald T., Pauquet J., et al. Genetic and physical mapping of the grapevine powdery mildew resistance gene, Run1, using a bacterial artificial chromosome library. *Theor Appl Genet.*, 2005, vol. 111, pp.370-377. doi: 10.1007/s00122-005-2030-8.
49. Coleman C., Copetti D., Cipriani G., et al. The powdery mildew resistance gene REN1 co-segregates with an NBS-LRR gene cluster in two Central Asian grapevines. *BMC Genet.*, 2009, vol. 10:89, 20 p. doi:10.1186/1471-2156-10-89.

50. Hoffmann S., Di Gaspero G., Kovacs L., et al. Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine «Kishmish vatkana» is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theor Appl Genet.*, 2008, vol. 116, pp.427-438. doi: 10.1007/s00122-007-0680-4.
51. Ramming D.W., Gabler F., Smilanick J., et al. A Single Dominant Locus, Ren4, Confers Rapid Non-Race-Specific Resistance to Grapevine Powdery Mildew. *Phytopathology*, 2011, vol. 101, pp.502-508. doi: 10.1094/PHYTO-09-10-0237.
52. Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Dumas V., Mestre P., Merdinoglu D. A reference genetic map of *Muscadinia rotundifolia* and identification of Ren5, a new major locus for resistance to grapevine powdery mildew. *Theor Appl Genet.*, 2012, vol. 125, pp.1663-1675 doi: 10.1007/s00122-012-1942-3.
53. Zhang J., Hausmann L., Eibach R., Welter L.J., Töpfer R., Zyprian E.M. A framework map from grapevine V3125 (*Vitis vinifera* 'Schiava grossa' x 'Riesling') x rootstock cultivar 'Börner' (*Vitis riparia* x *Vitis cinerea*) to localize genetic determinants of phylloxera root resistance. *Theor Appl Genet.*, 2009, vol.119, pp.1039-1051. doi: 10.1007/s00122-009-1107-1.
54. Walker M.A., Riaz S., Tenschler A. Optimizing the breeding of Pierce's disease resistant wine grapes with marker-assisted selection. *Acta Hort.*, 2014, vol.1046, pp.139-143. doi:10.17660/ActaHortic.2014.1046.17.
55. Gessler C., Pertot I. Vf scab resistance of *Malus*. *Trees*, 2012, vol.26, pp. 95-108. doi: 10.1007/s00468-011-0618-y.
56. Bastiaanse H., Bassett H.C., Kirk C., et al. Scab resistance in 'Geneva' apple is conditioned by a resistance gene cluster with complex genetic control. *Molecular Plant Pathology*, 2016, vol. 17, pp. 159-172. doi: 10.1111/mpp.12269.
57. Patzak J., Papršteinand F., Henychova A. Identification of Apple Scab and Powdery Mildew Resistance Genes in Czech Apple (*Malus domestica*) Genetic Resources by PCR Molecular Markers. *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 2011, vol. 47, pp. 156-165. <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/53380.pdf>.
58. Laloi G., Vergne E., Durel C.E., Le Cam B., Caffier V. Efficiency of pyramiding of three quantitative resistance loci to apple scab. *Plant Pathology*, 2017, vol. 66, pp.412-422. doi:10.1111/ppa.12581.
59. 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 Rep.*, 2015, vol.33, pp.1573-1583. doi: 10.1007/s11105-015-0858-x.
60. Servin B., Martin O.C., Mézard M., Hospital F. Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding. *Genetics*, 2004, vol. 168, pp.513-523. doi:10.1534/genetics.103.023358.
61. Peil A., Garcia-Libreros T., Richter K., Trognitz F.C., Trognitz B., Hanke M.V., et al. Strong evidence for a fire blight resistance gene of *Malus robusta* located on linkage group 3 // *Plant Breeding*. – 2007, vol. 126, pp. 470-475. doi: 10.1111/j.1439-0523.2007.01408.x.
62. Schouten H.J., Krens F.A., Jacobsen E. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants—International regulations for genetically modified organisms should be altered to exempt cisgenesis. *Embo Rep.*, 2006, vol. 7, pp. 750-753. doi: 10.1038/sj.embor.7400769.
63. Kost T.D., Gessler C., Jansch M., Flachowsky H., Patocchi A., Broggin G.A.L. Development of the first cisgenic apple with increased resistance to fire blight. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10:e0143980. doi:10.1371/journal.pone.0143980.
64. Wurdig J., Flachowsky H., Sa A., Peil A., Hanke M-V. Improving resistance of different apple cultivars using the Rvi6 scab resistance gene in a cisgenic approach based on the Flp/FRT recombinase system. *Mol Breeding*, 2015, vol. 35, pp. 1-18. doi: 10.1007/s11032-015-0291-8.
65. Bus V.G.M., Bassett H.C.M., Bowatte D., et al. Genome mapping of an apple scab, a powdery mildew and a woolly apple aphid resistance gene from open-pollinated Mildew Immune Selection. *Tree Genetics and Genomes*, 2010, vol. 6, pp. 477-487. doi: 10.1007/s11295-009-0265-2.
66. Jensen P.J., Fazio G., Altman N., Praul C., McNellis T.W. Mapping in an apple (*Malus x domestica*) F1 segregating population based on physical clustering of differentially expressed genes. *BMC Genomics*, 2014, vol.15:261. doi: 10.1186/1471-2164-15-261.

КӨПЖЫЛДЫҚ ЖЕМІС-ЖИДЕК ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ МЫСАЛЫНДА ЭКОНОМИКАЛЫҚ МАҢЫЗЫ БАР БЕЛГІЛЕРДІ АРТТЫРУ ҮШІН ГЕНОМДЫ ТЕХНОЛОГИЯЛАРДЫ ҚОЛДАНУ

Рябушкина Н.А., Пожарский А.С., Омашева М.Е.

*Өсімдіктердің биологиясы және биотехнологиясы институты
Тимирязев көш, 45, Алматы, 050040, Қазақстан
natrya7@yahoo.com*

ТҮЙІН

Жемістер мен көкөністер жақсы тамақтану және көптеген аурулардың алдын алу үшін маңызды деп танылады. Бау-бақша көпжылдық дақылдар әлемдік азық-түлік өндірісіне елеулі үлес қосады. Алайда, заманауи экономикалық және экологиялық талаптарға сай келетін өсімдік сұрыптар пайда болу үшін көптеген өсіру циклдары мен ондаған жылдар қажет. Дамыған молекулалық тәсілдер көпжылдық өсімдіктердің жаңа сұрыптардың селекциялық процесін оңтайландыру және жеделдету әлеуеті. Өртүрлі молекулалық маркерлерді және геномды реттеуін жана әдістерді жасау және тиімді пайдалану айтарлықтай фенотиптік белгілері бар жеке тұлғаларда қызығушылық белгілерінің молекулалық негізін анықтауға және гибриді популяцияның ішінде осы белгілерінің мұралық қадағалауға көмек көрсетеді. Шаруашылықта қолданылатын көпжылдық дақылдарды ювеналды кезеңде молекулалық маркерлер арқылы анықтау және молекулалық ерекшеліктері негізінде қызығушылық танытқан сорттарын құру болашағы зор аймағы болып табылады.

Негізгі сөздер: ағаш дақылдар, жабайы туыстар, молекулалық маркерлер, келесі ұрпақтың ДНҚ реттеуі, геномика негізінде селекциясы, ауруларға қарсылық, жүзім, алма.