

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И УСТОЙЧИВОСТИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР К ОСНОВНЫМ ПАТОГЕНАМ ПРИ ПОМОЩИ ДНК МАРКЕРОВ

Абдуллаев А., Абдурахимов А., Режапова М.

*Центр передовых технологий при Министерстве инновационного
развития Республики Узбекистан,
ул. Талабалар шахарчаси, 3 а, Ташкент, 100174, Узбекистан
abdullaev_alisher@yahoo.com, mrejavova@gmail.com*

АБСТРАКТ

Выведение современных сортов плодовых культур требует изучения их биоразнообразия, как источника генов полезных признаков, с целью их переноса и закрепления в геноме коммерческих сортов. Применение геномных технологий позволяет значительно ускорить селекционный процесс. Важное прикладное значение имеют исследования по выявлению и применению ДНК маркеров для изучения генетического разнообразия, сортовой идентификации, а также в целях переноса ассоциированных с ними генов ценных хозяйственных признаков посредством маркерной селекции. В статье рассмотрены результаты исследований по выявлению генов и ДНК маркеров, ассоциированных с генами устойчивости некоторых плодовых культур к основным заболеваниям.

Ключевые слова: ДНК-маркер, гены, локусы, идентификация, устойчивость

ВВЕДЕНИЕ

Молекулярно-генетические методы, в том числе ПЦР технологии, получили эффективное применение в изучении многих плодовых культур. Основные направления их использования сводятся в основном к созданию насыщенных молекулярными маркерами генетических карт, установлению филогенетических отношений между культурными и дикорастущими видами - донорами ценных признаков, идентификации сортов и гибридов, маркированию локусов, контролируемых хозяйственно-ценные признаки

Один из методов получивший широкое распространение в изучении генома плодовых культур является метод маркирования простых (микросателлитных) повторов ДНК – SSR технология [1]. Простые повторы ДНК, как правило, связаны с межвидовым и межсортовым полиморфизмом. Наличие подобной вариабельности внутри повторяющихся сайтов получило распространение в филогенетических исследованиях яблони [2], винограда [3], персика [4], и других культур.

SSR-маркеры характеризуются кодоминантностью, высокой полиморфностью и надежной воспроизводимостью. Этот тип маркеров наиболее удобен для построения генетических карт, определения сортовой принадлежности и выявления генов и/или локусов количественных признаков (QTL) отвечающих за различные признаки [5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Маркерная селекция и пирамидирование. Помимо определения сортовой принадлежности, ключевым направлением применения молекулярных маркеров является маркерная помощь селекции. Благодаря их использованию широко внедряется в практику новое направление, получившее название маркер-опосредованной селекции (МОС) или маркер-ассоциированной селекции (МАС) [12].

ДНК-маркеры успешно применяют, как на этапе подбора исходных источников для гибридизации, так и при последующем анализе гибридного материала и полученного сорта. ДНК-маркирование хозяйственно-ценных признаков позволяет вовлечь их в маркер опосредованную селекцию, призванную обеспечить более высокую эффективность, меньшую стоимость и меньшую продолжительность получения новых сортов и гибридов по сравнению с традиционными методами селекции [13].

Некоторые признаки определяются доминантными генами, некоторые аддитивным эффектом нескольких генов (QTL). В настоящее время, ученые, используя ДНК маркеры, при помощи МАС переносят и закрепляют сразу несколько локусов сцепленных с генами полезных признаков.

В последнее десятилетие достигнуты значительные успехи в улучшении повышения генетической устойчивости сельскохозяйственных культур к патогенам и вредителям [14].

Использование маркеров, которые плотно прилегают к геномным регионам, имеющим высокий уровень неравновесия по сцеплению (LD) с генами устойчивости в программе МАС, позволяет отбирать растения с целевыми маркерными аллелями, унаследованными от устойчивого родителя, начиная с раннего (F2) и последующих поколений развития сорта, без необходимости фенотипического отбора по устойчивости. Основной рабочий процесс МАС, связанный с «пирамидированием» генов одинаков для всех культур (рис. 1), однако существуют разные вариации этого процесса.

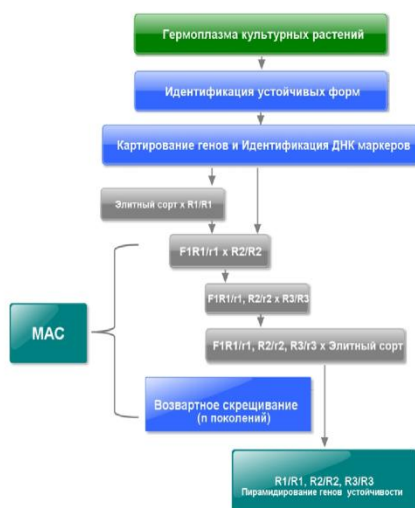


Рис. 1. Стандартная схема «пирамидирования» генов устойчивости с использованием маркер-ассоциированной селекции

Яблоня. Одомашненная яблоня (*Malus domestica* Borkh., семейство Rosaceae) является основной плодовой культурой, возделываемой в умеренных регионах мира. В настоящее время в мире насчитывается более 15 тысяч сортов яблони.

Подсемейство *Maloideae* к которому относится яблоня включает 22-25 родов и около 600 видов, которые произрастают в основном в умеренной зоне северного полушария. Род *Malus*, принадлежащий к этому подсемейству, является наиболее важным в народнохозяйственном отношении. Этот род имеет широкое распространение в различных эко-географических условиях. Ареал рода находится в пределах Европы, Азии и Северной Америки. Центром происхождения яблони домашней является Среднеазиатский генетический центр [15].

Одиннадцать лет назад была опубликована нуклеотидная последовательность яблони [16], что открыло перспективы по дальнейшему исследованию генома яблони.

Применение молекулярно-генетических технологий, в частности секвенирование генома яблони, выявило, что предком *Malus domestica* является дикий вид *Malus sieversii* [17].

SSR-анализ уже успешно был применен на яблоне для выявления внутривидового полиморфизма, определения сортовой принадлежности и построения генетической карты вида *Malus domestica* [2, 5, 18].

Маркеры для идентификации и дифференциации сортов яблони. В настоящее время известно большое количество микросателлитных (SSR) маркеров яблони и даже создана их база данных – GDR (Genome Database for Rosaceae), где представлена информация о маркерах многих Розоцветных, включая яблоню. Информация о самих маркерах яблони доступна по ссылке <https://www.rosaceae.org/search/markers>. Первая большая группа SSR маркеров, в количестве 140 штук, послужившая основой для базы данных и дальнейших исследований, была разработана группой европейских исследователей [8].

Из большого количества этих маркеров, ученые выявляют некоторые маркеры, позволяющие проводить генотипирование сортов яблони, с целью изучения не только генетического разнообразия, но дифференциации сортов. Например, для 66 коммерческих сортов яблони из венгерской коллекции при помощи 4 маркеров составлен развернутый аллельный профиль, причем маркеры SN03g07, SN04e03, SN05d11, и SN05e03 позволили дифференцировать каждый из 66 сортов [19]. Согласно Шамшину И. [20], проводившему исследования 71 представителя российской коллекции яблонь, минимальным количеством маркеров для определения сортовой специфичности является 11, а именно следующие маркеры: SN03d12, SN03d07, SN02c02b, SN01f03b, SN03d08, SN05g08, SN02g04, SN04e07, SN03d11, SN03d01, SN03a04.

Недавнее исследование 1600 образцов биоразнообразия яблони, представленное в 37 европейских коллекциях, позволило создать 600 молекулярно-генетических профилей. Эти профили были сгенерированы при помощи 14 уникальных SSR маркеров (Таблица 1).

Таблица 1. Перечень уникальных SSR маркеров используемых для сортовой идентификации

ПЦР-сет	Маркер	Концентрация праймера [μМ]	Диапазон фрагментов (п.н.)	Аллели (кол-во)	PIC*	Хромосома
Multi 1	SN01c06	0.8	146–190	19	0.77	8
	SN02b10	1.0	107–155	18	0.89	2
	SN03a04	0.4	86–134	20	0.84	5
Multi 2	SN01d08	0.7	238–294	20	0.75	15
	SN01f02	0.3	160–228	27	0.85	12
	SN02d12	0.6	169–223	23	0.76	11
	SN02h11a	0.8	98–130	12 (12)	0.79	4
Multi 3	SN02c02a	0.9	125–209	32 (31)	0.89	2
	SN02c09	0.6	233–259	12 (12)	0.82	15

	CH02c11	0.52	210–268	20 (19)	0.87	10
	CH01h01	0.25	102–146	17 (17)	0.83	17
Multi 4	CH01f07a	0.3	173–205	16 (16)	0.84	10
	CH02d08	0.9	208–262	19 (19)	0.82	11
	COL	0.5	203–243	17 (17)	0.75	10

PIC – (Polymorphism Information Content) – значение содержания полиморфной информации маркера, варьируется от 0 до 1, чем выше значение, тем более информативен маркер.

Важно отметить, что один маркер может иметь несколько аллельных вариантов (от 2 до >30), в среднем 20 аллелей, что позволяет при помощи небольшого количества маркеров проводить индивидуальную сортовую идентификацию.

Все маркеры, перечисленные выше, можно использовать в качестве дифференциаторов сортовой принадлежности.

Помимо сортовой идентификации и дифференциации, SSR маркеры широко применяются для изучения генетического разнообразия, а также для выявления ассоциированных с ними признаков. Различные признаки яблони, контролируемые главными генами, успешно идентифицируются молекулярными маркерами (в основном SSR), сцепленными с этими генами [21]. В основном это некоторые хозяйственные признаки и лёжка плодов, содержание полезных веществ, а также признаки устойчивости к наиболее распространенным и опасным заболеваниям яблони.

Болезни яблони. Одними из самых распространённых заболеваний яблони являются: парша (scub) яблони вызываемая патогенным грибом *Venturia inaequalis*, альтернариоз вызываемый патогенным сумчатым грибом *Alternaria alternata*, мучнистая роса (mildew) яблони вызываемая сумчатым грибом *Podosphaera leucotricha* и бактериальный ожог (fire blight) вызываемый бактерией *Erwinia amylovora*.

Маркеры устойчивости к парше яблони. В настоящее время известно по меньшей мере 20 генов устойчивости к парше. Первые 8 из них: *Va*, *Vb*, *Vbj*, *Vg*, *Vf*, *Vh*, *Vm* и *Vr* хорошо изучены и идентифицированы свыше 15 лет назад [22]. Свои названия, эти гены получили от видов или сортов, где были выявлены: *Vf* – *M. Floribunda* 821, *Vm* – *M. Micromalus* 245-38, *Va* – Антоновка PI172623, *Vb* – *M. baccata* Dolgo, *Vbj* – *M. baccata jackii* DgR 27T1, *Vr* – Russian seedling R12740-7A и *Vg* – Golden delicious [23]. Перечисленные гены отвечают, за устойчивость к специфической расе патогена. В настоящее время для генома яблони имеются маркеры сцепленные с генами устойчивости к парше *Vf*, *Vh2*, *Vh4*, *Vbj* [22]. Позднее были идентифицированы еще несколько генов, и была предложена новая их номенклатура (Таблица 2) [24].

Табл.2. Гены устойчивости к парше яблони

№	Сорт дифференциатор	Старое название	Новое название	Группа сцепления	Реакция устойчивости
1	Royal Gala	–	–	–	Неустойчив
2	Golden Delicious	<i>Vg</i>	<i>Rvi1</i>	LG 12	Некроз
3	TSR34T15	<i>Vh2</i>	<i>Rvi2</i>	LG2	Звездчатый некроз
4	Geneva ^a	<i>Vh3.1</i> ^b	<i>Rvi3</i>	LG4	Звездчатый некроз
5	TSR33T239	<i>Vh4 = Vx = Vr1</i>	<i>Rvi4</i>	LG2	Гиперчувствительный
6	9-AR2T196	<i>Vm</i>	<i>Rvi5</i>	LG17	Гиперчувствительный
7	Priscilla	<i>Vf</i>	<i>Rvi6</i>	LG1	Хлороз
8	<i>Malus × floribunda</i> 821	<i>Vf_h</i>	<i>Rvi7</i>	LG8	Гиперчувствительный
9	4B5	<i>Vh8</i>	<i>Rvi8</i>	LG2	Звездчатый некроз
10	K2,	<i>Vdg</i>	<i>Rvi9</i>	LG2	Звездчатый некроз

11	A723–6	<i>Va</i>	<i>Rvi10</i>	LG1	Гиперчувствительный
12	A722–7	<i>Vbj</i>	<i>Rvi11</i>	LG2	Звездчатый некроз/хлороз
13	Hansen's baccata #2	<i>Vb</i>	<i>Rvi12</i>	LG12	Хлороз
14	Durello di Forli	<i>Vd</i>	<i>Rvi13</i>	LG10	Звездчатый некроз
15	Dülmener Rosenapfel	<i>Vdr1</i>	<i>Rvi14</i>	LG6	Хлороз
16	GMAL 2473	<i>Vr2</i>	<i>Rvi15</i>	LG2	Гиперчувствительный
17	MIS op 93.051 G07	<i>Vmis</i>	<i>Rvi16</i>	LG3	Гиперчувствительный
18	Antonovka APF22	<i>Va1</i>	<i>Rvi17</i>	LG1	Хлороз
19	1980-015-025	<i>V25</i>	<i>Rvi18</i>	LG11	Гиперчувствительный
20	Honeycrisp	–	<i>Rvi19</i>	LG1	Все типы реакций
21	Honeycrisp	–	<i>Rvi20</i>	LG15	Все типы реакций

Из всех перечисленных генов, ген *Vf* является наиболее используемым в селекции по созданию устойчивых сортов, так как обеспечивает высокий процент устойчивости (более 80%) ко всем расам патогена. Поэтому генетический локус выделенный из *Malus floribunda* 821 интродуцирован во многие коммерческие сорта [25]. Недавно, в Северной Америке был идентифицирован штамм, который обходит устойчивость *Malus floribunda* 821, однако у сортов, полученных от *Malus floribunda* 821 устойчивость сохраняется, что указывает на сложные генетические механизмы, которые требуют дальнейшего изучения [26].

Гены *Vf* представляют большой генный кластер размером 200 тыс.п.н (пар нуклеотидов), локализованных на первой хромосоме яблони. Как показали исследования, при клонировании четырех сходных генов (*Vfa1-Vfa4*) в кластерном локусе *Vf* *M. floribunda* 821 оказалось, что непосредственно за иммунитет к заболеванию отвечает ген *Vfa4* [25, 27]. Таким образом, устойчивость к поражению *Venturia inaequalis* характеризуется наличием гена *Vfa4*, отличающегося от остальных делецией на одном из участков.

Для выявления распространения гена в коллекциях сортов и форм яблони применяют *STS*-маркер *VfC* разработанный Afunian M.R. [25]. Согласно ему, идентификацию проводят с использованием следующей последовательности праймеров: прямой *VfC1F* (5'-GGT TTC CAA AGT CCA ATT CC -3') и обратный *VfC2R* (5'-CGT TAG CAT TTT GAG TTG AC -3').

Дополнительно к этому можно использовать *Vf* праймеры (AL07-For, AL07-Rev, AM19-For, AM19-Rev) разработанные Тартарини и соавт. [28]. Праймер AL07 кодоминантный, а AM-19 доминантный, оба специфичны гену *Vf*. Праймеры AL07-For и AL07-Rev амплифицируют продукты размером 466 п.н (устойчивый) и 724 п.н. сцепленный с чувствительностью к патогену, а праймеры AM19-For и AM19-Rev амплифицируют фрагмент размером 526 п.н. ассоциированный с устойчивостью. Процедура выделения ДНК и условий проведения реакции приведен в диссертационной работе [29].

При проведении реакции с праймерами *VfC1* и *VfC2* амплифицируются три фрагмента, которые соответствуют участкам генов *Vfa1*, *Vfa2* и *Vfa4* размерами 646, 484 и 286 п.н. соответственно. Эти гены гомологичны генам *HcrVf1*, *HcrVf2*, и *HcrVf4*, выявленным у сорта Флорина [25]. Таким образом, наличие у образцов фрагмента размером 286 п.н. характеризует сорт как устойчивый к парше.

Устойчивость к парше также ассоциирована с маркерами Ni02d05 и Ni07f01, которые фланкируют регион, содержащий QTL устойчивости к парше, причем для идентификации устойчивых генотипов, необходимо проводить генотипирование обеими маркерами, так как только наличие двух этих маркеров определяет устойчивость [30]. В настоящее время для генома яблони имеются маркеры сцепленные с генами устойчивости к парше *Vf*, *Vh2*, *Vh4*, *Vbj* [22]. Недавно были разработаны мультиплексные наборы для проведения анализа

устойчивости к парше при помощи флуоресцентно-меченных маркеров CH-Vf (Vf) CH01d03, (Vg) CH02c02a, (Vr2) и Hi07h02 (Vm) [31].

Маркеры устойчивости к альтернариозу яблони. Другое распространённое заболевание яблони – альтернариоз, вызывается патогенным грибом *Alternaria alternata*. В настоящее время заболевание считается наиболее серьезной грибковой инфекцией поражающей растения в Японии [32, 33, 34], Корею [35] США [36] и Китае [37].

Анализ неустойчивого к *A. alternata* сорта Golden Delicious и устойчивого сорта Нуаси из гермплазмы Китая, а также последующий анализ популяции полученной от скрещивания при помощи микросателлитных маркеров позволили выявить маркер CH05g07. Наличие локуса размером 163п.н. говорило о неустойчивости к альтернариозу [38]. Недавно, японскими исследователями был выявлен еще один маркерный регион Alt содержащий уникальную инсерцию размером 12п.н., было показано, что данный маркер, содержащий инсерцию, ассоциирован с устойчивостью к заболеванию [39].

Маркеры устойчивости к бактериальному ожогу яблони.

Бактериальный ожог, вызываемый патогенной бактерией *Erwinia amylovora* наносит также огромный урон урожаю яблонь и груш. Меры по контролю заболевания практически неэффективны. Как и многие признаки устойчивости к заболеваниям, устойчивость к *E. amylovora* количественная по своей природе и встречается как у диких, так и у культивируемых растений [40, 41, 42]. За прошедшие годы ученым удалось выявить QTL's отвечающие за устойчивость к бактериальному ожогу у сорта Fiesta [43, 44].

Для выявления устойчивых к бактериальному ожогу генотипов были разработаны SCAR маркеры: AE10-375 и GE-8019, которые теперь повсеместно используют в исследованиях резистентности яблони к бактериальному ожогу [45] и SSR маркеры Hi23d11у Hi07f01 [422]. SCAR маркер AE10-375 (доминантный) у устойчивых генотипов амплифицирует 1 фрагмент 375 п.н. (устойчивый) либо не амплифицирует у неустойчивых генотипов, маркер AE10-375 используют совместно с SSR маркером CH-F7-Fb1 у Fiesta 210 п.н. (устойчивый) и 174п.н. неустойчивый (сорт Discovery) [45].

Маркеры устойчивости к мучнистой росе яблони. Мучнистая роса (вызывает гриб *Podosphaera leucotricha*) еще одно опасное заболевание, которое наносит огромный вред яблоневым фермам в мире. К настоящему времени выявлено несколько генов обуславливающих устойчивость к *P.leucotricha*, а именно: P11, P12, P1d, P1-m, P1w [22, 46, 47, 48, 49].

Исследователями были разработаны SCAR маркеры для определения устойчивости к *P.leucotricha*. Определение устойчивости к мучнистой росе проводят с помощью SCAR маркеров OPU02 (ген P12), OPAУ17/B16a, OPAУ17/B16b (ген P1-2/P1-m), OPAC20 (ген P1-m), OPN18 (ген P1-m/P1-a) (Gardiner et al, 2003) и AT20-450(P11), EM DM01(P1d), dr70F/dr339R (P12), EM M02 (P1-w). Температурный режим и состав реакционной смеси для каждого из маркеров устанавливают согласно литературе [50].

Также исследователями выявлен локус Sd-1 отвечающий за устойчивость яблони к тле (*Dysaphis devectora*). Для выявления локуса Sd-1 используют SSR маркер CH-Sd1 амплифицирует локусы 230/246 (Fiesta) и 242/256 (Discovery) [4538].

Груша. После винограда и яблони, груша является третьей важной фруктовой культурой в умеренных регионах мира [51]. Груша принадлежит к роду *Pyrus* семейство розоцветных (Rosaceae) и берет свое происхождение из Западного Китая. Известно, по меньшей мере, 23 каталогизированных дикорастущих вида груш в мире, подразделённых на две большие группы –

Азиатскую и Европейскую. В настоящее время только несколько видов возделывается на коммерческой основе. Среди них основное место занимает груша одомашненная (*Pyrus communis*) возделываемая в более чем 50 странах.

К сожалению, генетические ресурсы груши не могут быть полностью раскрыты по причине низкого морфологического разнообразия, недостаточной дифференцировки признаков между видами и высокой степени переопыления [52]. Не секрет, что оценка на основе морфологических признаков приводит к путанице, поскольку внешние признаки очень похожи. Более того, происходит регулярная интродукция новых сортов, что делает определение сортовой принадлежности на основе морфологических признаков довольно сложной задачей. Поскольку молекулярные (в частности ДНК) маркеры, не подвержены воздействию внешних факторов и фенотипа их довольно просто использовать в качестве дифференцировки сортов неразличимых фенотипически [53]. Например, [54] смогли дифференцировать Азиатские и Европейские груши при помощи микросателлитных маркеров.

К настоящему времени у груши сорта Bartlett (Вильямс) секвенировано 43419 предполагаемых генов [54,55].

Среди многих болезней особый вред груше наносит парша (*Venturia pyrina* Aderh.) и бактериальный ожог (*Erwinia amylovora*) вызываемые патогенными микроорганизмами, а так же насекомым - грушевой медяницей или грушевой листоблошкой (*Cacopsylla pyri*).

Маркеры устойчивости к парше груши (*Venturia pyrina*). Исследователями недавно идентифицирован ген *Rvp1*, контролирующий устойчивость к *V. pyrina*, носителем которого является сорт груши «Navara», и выявлен SSR- маркер CH02b10, тесно сцепленный с данным локусом [56].

Маркеры устойчивости к бактериальному ожогу груши (*E. amylovora*). Устойчивость к бактерии *E. amylovora*. Охарактеризованы четыре гена устойчивости к этой бактерии: *PR-1a*, *PR-2*, *PR-5*, *PR-8*, а также два дополнительных *PR-1*- подобных гена. Гены *PR-1a*, *PR-1b* и *PR-1c* не принимают участия в реакции молодых побегов яблони на инфекцию, т.е. не образуют точечных некрозов [41, 57]. Недавно проведенный молекулярно-генетический анализ в условиях Новой Зеландии и Франции на предмет устойчивости к ожогу среди нескольких экспериментальных популяций полученных от межвидового и внутривидового скрещивания позволил идентифицировать основной QTL в группе сцепления LG2 и минорный в LG9. Таким образом, для главного QTL были идентифицированы маркеры CH02f06 (176 п.н.) и TsuENN017 (179п.н. и 169п.н.), а для минорного QTL в группе сцепления LG9 маркеры CH05c07 (141п.н.) и NB130b (90п.н.) [58].

Маркеры устойчивости к грушевой листоблошке (*Cacopsylla pyri*). Предположительный кандидатный локус устойчивости к грушевой листоблошке недавно идентифицировали на 17 хромосоме на основе анализа популяции полученной от скрещивания устойчивого сорта ‘NY10353’ и неустойчивого ‘Doyenne du Comice’. QTL устойчивости картирован между SSR маркером CH05G03 и AJ001681SSR (интервал от 5,0 до 5,8 Mbp) [59]. В этом промежутке были идентифицированы: ген, кодирующий белок NBS-LRR (MDP0000202785 в геноме яблони), относящийся к семейству растительных генов резистентности и ген эндо-1,3-глюканазы (MDP0000314562), относящийся к PR кодирующим белкам.

Гранат. Гранат (*Punica granatum* L.) сем. Lythraceae является одной из древнейших культур известных человечеству и произрастает в естественных природных условиях, как в диком, так и культивируемом виде в Индии, Афганистане и Сирии, берёт свое происхождение из Ирана [60]. Одомашнивание

культуры произошло по разным данным 3500 - 2000 лет до н.э. [61, 62]. В настоящее время возделывается во многих странах.

Несмотря на долгую историю возделывания, гранат очень мало изучен. Генетическое разнообразие стали более активно изучать только в последние годы. Например, разными группами исследователей были проведены исследования генетического разнообразия граната в Индии, Турции, Марокко, Туниса, Ирана, Испании, Италии и Китая [60, 63].

По сравнению с другими культурами, применение молекулярных маркеров в изучении граната находится на начальном этапе [64]. В настоящее время разработаны и разрабатываются SSR маркеры [2, 63, 65].

Эти маркеры используют для выявления ассоциаций с морфологическими признаками [66].

Недавно молекулярный анализ при помощи SSR маркеров и ассоциативного картирования в Индии, позволил выявить маркеры устойчивости к бактериальному ожогу граната вызываемым *Xanthomonas axonopodis* pv. *Punicii*. Так, был определен маркер PGCT001 с локусом 153 п.н. ассоциированный с устойчивостью к бактериальному ожогу, и маркер PGT020, более того было выявлено, что наличие PGCT001 с локусом 101п.н. ассоциировано с крупностью плода [67], таким образом оба признака имеют обратную корреляцию и, можно сделать вывод, что наследование мелких плодов ассоциируется также и с устойчивостью к бактериальному ожогу.

К настоящему моменту больше маркеров, ассоциированных с устойчивостью к биотическим и абиотическим факторам у граната не выявлено.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленная научная информация по генетическим маркерам устойчивости плодовых культур к различным патогенным организмам, регулярно дополняется и с успехом используется учеными-селекционерами во многих странах. Применение технологии MAS, доказало свою эффективность, уже созданы и интродуцированы различные сорта, обладающие устойчивостью к некоторым штаммам фитопатогенов. Однако, исследования должны проводится регулярно, поскольку патогенные микроорганизмы отличаются существенной изменчивостью, а засадка современных садов достаточно плотная, это позволяет патогенам быстро обходить устойчивость, что приводит к появлению новых более агрессивных штаммов, вызывающих периодические эпифитотии. Более того, в эпоху глобализации, осуществляется постоянная интродукция новых сортов и привойного материала, что значительно увеличивает вероятность возникновения новых, не свойственных данному региону болезней.

Поэтому, необходимо регулярно осуществлять детальный и систематический скрининг разнообразия гермоплазмы плодовых культур на предмет выявления новых образцов-доноров устойчивости к фитопатогенам и вредителям. На примере зарубежных исследований, видно, что такие работы проводятся и регулярно выявляются устойчивые и умеренно устойчивые формы, которые служат для генетических исследований по выявлению новых аллельных вариантов устойчивости к парше, бактериальному ожогу и другим болезням для их использования в дальнейших селекционных мероприятиях [21, 26]. Необходимо использовать технологии пирамидирования генов качественных и количественных признаков устойчивости для создания сортов, обладающих комплексной и продолжительной устойчивостью. Более того, выявляемые локусы устойчивости нужно комбинировать с локусами других полезных признаков, как урожайность, лёжкость, качество плодов и другие признаки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Weber J.L. and May P.E. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chainreaction. //Am. J. Hum. Genet.- 1989. -Vol. 44.-P. 388-396.
2. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* Borkh. Core subset collection // Theor.Appl.Genet. - 1998. - Vol. 97. - P. 671-683.
3. Di Gaspero G., Peterlunger E., Testolin R., Edwards K. J., Cipriani G. Conservation of microsatellite loci within thegenus *Vitis*. //Theor. Appl. Genet. - 2000 - Vol. 101. - P. 301-308.
4. Cipriani G., Lot G., Huang W-G., Marrazzo M.T., Peterlunger E., Testolin R. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L)Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. //Theor. Appl. Genet. - 1999. - Vol.99. - P. 65-72.
5. Gianfranceschi L., Seglia N., Tarchini R., Komjanc M., Gessler C. Simple sequence repeats for the genetic analyses of apple. //Theor. Appl. Genet. -1998. - Vol.96. - P.1069-1079.
6. Maliepaard C., Alston F.H., Van Arkel G., Brown L.M., Chevreau E., Dunemann F., Evans K.M., Gardiner S., Guilford P., Van Heusden A.W., Janse J., Laurens F., Lynn J.R., Manganaris A.G., Den Nijs A.P.M., Periam N., Rikkerink E., Roche P., Ryder C., Sansavini S., Schmidt H., Tartarini S., Verhaegh J.J., Vrieling-Van Ginkel M., King G.L. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumilla* Mill.) using multiallelic markers. //Theor. Appl. Genet. - 1998.- Vol.97. - P. 60-73.
7. Hokanson S.C., Lamboy W.F., SzewcMcFadden A.K., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids // Euphytica. - 2001. - Vol. 118. - P. 281-294.
8. Liebhard R., Gianfranceschi L., Koller B. et al. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.) // Molecular Breeding.- 2002. - Vol.10. - P. 217-241. doi.org/10.1023/A:1020525906332
9. Kenis K., Keulemans J. Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers // Molecular Breeding. - 2005. - Vol. 15. - P. 205-219.
10. Silfverberg-Dilworth E., Matasci C.L., Van de Weg W.E., Van Kaauwen M.P. W., Walser M., Kodde L.P., Soglio V., Gianfranceschi L., Durel C.E., Costa F., Yamamoto T., Koller B., Gessler C., Patocchi A Microsatellite markers spanning the apple (*Malus x domestica* Borkh.) genome. // Tree Genetics & Genomes. -2006. - Vol. 2. - P. 202-224.
11. Celton J.-M., Tustin D.S., Chagné D., Gardiner S.E. Construction of a dense genetic linkage map for apple rootstocks using SSRs developed from *Malus* ESTs and *Pyrus* genomic sequences // Tree Genetics & Genomes. - 2009. - Vol. 5. - P. 93-107.
12. Collard B., Mackill D., Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century // Physiological Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.- 2008.- Vol.363. - P. 557-572.
13. Yunbi Xu, Crouch J. H.. Marker-Assisted Selection in Plant Breeding: From Publications to Practice. // Crop Sci. - 2008. - Vol. 48. - P. 391-407. doi: 10.2135/cropsci2007.04.0191
14. Joshi R.K., Nayak S., Gene pyramiding-A broad spectrum technique for developing durable stress resistance in crops. // Biotechnology and Molecular Biology Review. - 2010. - Vol.5. - P. 51-60.

15. Pereira-Lorenzo S., Ramos-Carber A.M., Fischer M. Breeding Apple (*Malus × domestica* Borkh). In Jain, Shri Mohan, Priyadarshan, P.M. (eds.). Breeding Plantation TreeCrop: Temperate Species. Springer-Verlag. New York. 2009.pp. 33-81.
16. Velasco Riccardo. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.) / Riccardo Velasco, Andrey Zharkikh, Jason Affourtit // Nature Genetics - 2010. - Vol. 42. - P. 833-839. <https://doi:10.1038/ng.654>
17. Velasco Riccardo. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.) / Riccardo Velasco, Andrey Zharkikh, Jason Affourtit // Nature Genetics - 2010. - Vol. 42. - P. 839-841. <https://doi:10.1038/ng.654>
18. Guilford P., Prakash S., Zhu J.M., Rikkerink E., Gardiner S., Bassett H., Forster R. Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification // Theor.Appl.Genet. - 1997. - Vol.94. - P. 249-254.
19. Galli Z., Halasz G., Kiss E., Haszky L. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers// Hort Sci.- 2005.- Vol.40.- P.1974-1977.
20. Шамшин И. Н. Оценка генетического разнообразия сортов и форм яблони с использованием ДНК-маркеров.- Диссертация на соискание степени канд.биол.наук. Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И.В. Мичурина. -2014.
21. Patocchi A., Walser M., Tartarini S., Broggin G.A.L., Gennari F., Sansavini S. & Gessler C. Identification by genome scanning approach (GSA) of a microsatellite tightly associated with the apple scab resistance gene *Vm* // Genome.- 2020.- Vol. 48.- P.630-636.
22. Gessler C., Patocchi A., Sansavini S., Tartarini S. & L. Gianfranceschi (). *Venturia inaequalis* resistance in apple// Critical Reviews in Plant Sciences. - 2006.- Vol. 25.- P. 473-503.
23. Савельев Н.И., Савельева Н.Н., Юшков А.Н. Перспективные иммунные к парше сорта яблони: научное издание - Мичуринск-наукоград РФ.- 2009. - 126 с.
24. Khajuria Y.P., Kaul S., Wani A.A. et al. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke.// Tree Genetics & Genomes.- 2018.- Vol.14.- P. 16. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1226-4>
25. Afunian M.R., Goodwin P.H. Hunter Linkage of *Vfa4* in *Malus x domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* // Plant Pathology. - 2004.- Vol. 53. - P. 461-467.
26. Papp D., Singh J., Gadoury D.M., Khan M.A. New North American isolates of *Venturia inaequalis* can overcome apple scab resistance of *Malus floribunda* 821// Plant Dis. – 2019.- Vol.104, №3. - P.649-55.
27. Vinatzer B., Zhang H., Sansavini S. Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome library of apple // Theoretical and Applied Genetics. - 1998. - Vol. 42. - P. 1183-1190
28. Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S. Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple// Plant Breeding.- 1999.- Vol.118. - P. 183-186.
29. Bekbergen Anel. Marker assisted breeding and screening of apple scab resistance (*Vf* gene) from columnar apple seedlings by PCR. MSc Thesis/ Green Biotechnology and Food Security/ University of Eastern Finland/Faculty of Science and Forestry/Department of Environmental and Biological Sciences/ September 23. - 2016.
30. Erdin N., Tartarini S., Broggin G.AL., Gennari F., Sansavini S., Gessler C., Patocchi A. Mapping of the apple scab-resistance gene *Vb* // Genome.- 2006.- Vol.49. - P.1238-1245.
31. Супрун И.И., Токмаков С.В., Степанов И.В., Иванова А.М. Разработка мультиплексного набора для маркерной селекции яблони на устойчивость к парше. Научные труды СКЗНИИСИВ. -2017. -Т. 12. - С.26-30.

32. Sekiguchi A. Studies on the alternaria leaf spot disease of apples caused by *Alternaria mali* Roberts.// Bul. Nagano Hort. Expt. Sta.- 1976.- Vol. 12. - P.1-63.
33. Sawamura K. *Alternaria* blotch, In: Jones, A. and H. Aldwinckle (ed.). Compendium of apple and pear diseases. APS Press: St. Paul. - 1990. - P. 24-25.
34. Saito A., Nakazawa N., Suzuki M. Selection of mutants resistant to alternaria blotch from in vitro-cultured apple shoots irradiated with X- and [gamma]-rays.// J. Plant Physiol.- 2001. - Vol.158. - P.391-400.
35. Lee, D.H., Lee G.E. Studies on causal agents, overwintering of organisms and control of alternaria leaf spot of apple // J. Korean Soc. Hort. Sci. -1972.- Vol. 11.- P.41-47.
36. Filajdic N., Sutton T.B. Identification and distribution of *Alternaria mali* on apples in North Carolina and susceptibility of different cultivars of apples to alternaria blotch// Plant Dis. - 1991.- Vol. 75.- P.1045-1048.
37. Zhao L. Detection of RAPD marker linked to the resistance gene to alternaria leaf spot in apples. Northwest A&F University Press, Yang Ling, China. [in Chinese].- 2008.
38. Li Haoxian, Cao Shang-yin, Niu Juan, Yuan Pinli, Zhao Diguang and Zhang Fuhong. The Types and Application of Molecular Markers in the Study of Pomegranate Germplasm Resources. [Proc. IIIrd IS on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits]. Acta Hort. -1089, ISHS.- 2015.
39. Moriya S., Terakami S., Okada K. et al. Identification of candidate genes responsible for the susceptibility of apple (*Malus × domestica* Borkh.) to *Alternaria* blotch. //BMC Plant Biol.- 2019.- Vol.19. -P.132. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1737-7>
40. Brisset M.N., Faize, M., Heintz C., Cesbron S., Chartier R., Tharaud, M. and Paulin, J.P. Induced resistance to *Erwinia amylovora* in apple and pear// Acta Hort. 2002. - Vol. 590. - P. 335-338. <https://doi: 10.17660/ActaHortic.2002.590.49>
41. Dondini L., Pierantoni L., Gaiotti F. et al. Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (*Pyrus communis* L.) genetic linkage map // Mol. Breed. - 2004. - Vol. 14. -P. 407-418.
42. Durel C.E., Guérif P., Belouin A., Le Lezec M. Estimation of Fire Blight Resistance Heritability in the French Pear Breeding Program Using a Pedigree-Based Approach.// Acta Hort. - 2004.- Vol. 663. - P. 251-256. <https://doi: 10.17660/ActaHortic. 2004.663.40>.
43. Calenge F., Drouet D., Denance C., Vande Weg W.E., Brisset M. N., Paulin J.P., Durel C-E. Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies// Theor. appl. Genet. -2005. -Vol.111. -P. 128-135.
44. Khan M.A., Duffy B., Durel C.E., Gessler C., Patocchi A. QTL mapping of fire blight resistance in apple// Mol. Breed. -2006.- Vol.17. P.299-306.
45. Khan M.A., Durel C.-E., Duffy B. et al. Development of molecular markers linked to the 'Fiesta' linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection //Genome. -2007. -Vol. 50. - P. 568-577.
46. Markussen T., Krüger J., Schmidt H. & Dunemann F. Identification of PCR-based markers linked to the powdery mildew resistance gene Pl1 from *Malus robusta* in cultivated apple// Plant Breed. -1995. -Vol.114. -P. 530-534.
47. Seglias N.P., Gessler C. Genetics of apple powdery mildew resistance derived from *Malus zumi* (Pl2)// IOBC/WPRS BULL. -1997.- Vol.20, №9.- P. 195-208.
48. Gardiner S., Murdoch J., Meech S. et al. Candidate resistance genes from an EST database prove a rich source of markers for major genes conferring resistance to important apple pests and diseases// Acta Hort. - 2003. - Vol. 622. - P. 141-151.

50. Урбанович О.Ю., Козловская З.А., Картель Н.А. Распространение генов устойчивости к мучнистой росе в коллекции сортов и видов яблони, выращиваемых в Беларуси// Молекулярная и прикладная генетика. Молекулярная и прикладная генетика: сборник научных трудов / Институт генетики и цитологии. - Минск, 2010. – Т. 11. - С. 20-25.
51. Oliveira C.M., Mota M., Monte-Corvo L., Goulao L., Silva D.M. Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers// *Sci Hortic.*- 1999.- Vol. 79. - P.163-174.
52. Bell R.L., Quamme H.A., Layne R.E.C., Skirvin R.M. Pears. In: J Janick & J N Moore (Eds.), *Fruit Breeding.*- 1996. -Vol. 1.- P. 441- 514.
53. Belaj A., Satovic Z., Rallo L., Trujillo I. Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA// *Theor Appl Genet.*- 2002. -Vol. 105. -P.638-64.
54. Safarpour S.M., Bahar M., Tabatabaei B., Abdollahi A. Determination of genetic diversity in pear (*Pyrus* spp.) using microsatellite markers// *Iran J Hortic Sci Technol.*- 2008.- Vol.9, №2. -P.113-128.
55. Chagne D., Crowhurst R.N., Pindo M., Thrimawithana A., Deng C., Ireland H., Fiers M., Dzierzon H., Cestaro A., Fontana P. The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. «Bartlett»)// *PLoS ONE.*- 2014.- Vol. 9, № 4.- e92644.
56. Bouvier L., Bourcy M., Boulay M., Tellier M., Guerif P., Denance C., Durel C.-E., Lespinasse Y. A new pear scab resistance gene *Rvp1* from the European pear cultivar “Navara” maps in a genomic region syntenic to an apple scab resistance gene cluster on linkage group 2// *Tree Genet. Genomes.* -2012. -Vol. 8. - P.53-60. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0419-x>
57. Bokszczanin K., Dondini L., Przybyla A.A. First report on the presence of fire blight resistance in linkage group 11 of *Pyrus ussuriensis* Maxim // *J. Appl. Genet.* - 2009. - Vol. 50, № 2. -P. 99-104.
58. Montanari S., Perchepped L., Renault D., Frijters L., Velasco R. Horner H. Gardiner S.E. Chagne D. Bus V. Durel C.-E. Malnoy M. A QTL detected in an interspecific pear population confers stable fire blight resistance across different environments and genetic backgrounds// *Mol Breeding.*- 2016.- Vol. 36. -P.47.
59. Dondini, L. et al., Identification of a QTL for psylla resistance in pear via genome scanning approach// *Sci. Hortic.*- 2015.
60. Teixeira da Silva J.A., Rana T.S., Narzary D., Verma N., Meshram D.T., Ranade S.A. Pomegranate biology and biotechnology: a review// *Sci Hortic.*- 2013.- Vol.160. -P.85-10.
61. Levin G.K., Pomegranate (*Punica granatum*) plant genetic resources in Turkmenistan// *Plant Genet. Res. Newslett.* -1994. -Vol.97.-P. 31-37.
62. Rana J.C., Pradheep K., Verma V. Naturally occurring wild relatives of temperate fruits in Western Himalayan region of India: an analysis// *Biodivers Conserv.*- 2007.-Vol. 16, №14. -P.3963-3991.
63. Hasnaoui Nejib, Anna Buonamici, Federico Sebastiani, Messaoud Mars, Dapeng Zhange, Giovanni G. Vendramin. Molecular genetic diversity of *Punica granatum* L. (pomegranate) as revealed by microsatellite DNA markers (SSR)// *Gene.*- 2012. - Vol.493. -P. 105-112.
64. Ying Li, Liyi Zhang, Zhen Zhang, Peihua Cong, Zong-Ming Cheng. A Simple Sequence Repeat Marker Linked to the Susceptibility of Apple to *Alternaria* Blotch Caused by *Alternaria alternata* Apple Pathotype// *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2011.- Vol.136, №2. -P.109-115.
65. Pirseyedi S.M., Valizadehgan S., Mardi M., Ghaffari M.R., Mahmoodi P., Zahravi M., Zeinalabedini M., Khayam-Nekoui S.M. Isolation and characterization of

novel microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum L.*)// *Int. J. Mol. Sci.*-2010.- Vol. 11.- P. 2010-2016.

66. Basaki Tayebe, Choukan Rajab, Seyed Mojtaba Khayam Nekouei, Mohsen Mardi, Eslam Majidi, Sakine Faraji and Mehrshad Zeinolabedini. Association Analysis for Morphological Traits in Pomegranate (*Punica granatum L.*) Using Microsatellite Markers// *Middle-East Journal of Scientific Research.*- 2011. -Vol.9, №3. -P. 410-417.

67. Singh N.V., Abburi V.L., Ramajayam D., Kumar R., Chandra R., Sharma K.K., Sharma J., Babu K.D. et.al. Genetic diversity and association mapping of bacterial blight and other horticulturally important traits with microsatellite markers in pomegranate from India// *Mol Genet Genomics.* -2015. - Vol.290, №4. -P. 1393-402. <http://doi:10.1007/s00438-015-1003-0>.

REFERENCES

1. Weber J.L., May P.E. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, vol.44, pp. 388-396.

2. Hokanson S.C., Szewc-McFadden A.K., Lamboy W.F., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) markers reveal genetic identities, genetic diversity and relationships in a *Malus x domestica* Borkh. Core subset collection. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, vol. 97, pp. 671-683.

3. Di Gaspero G., Peterlunger E., Testolin R., Edwards K. J., Cipriani G. Conservation of microsatellite loci within the genus *Vitis*. *Theor. Appl. Genet.*, 2000, vol. 101, pp. 301-308.

4. Cipriani G., Lot G., Huang W-G., Marrazzo M.T., Peterlunger E., Testolin R. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L)Batsch]: isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theor. Appl. Genet.*, 1999, vol.99, pp. 65-72.

5. Gianfranceschi L., Seglia N., Tarchini R., Komjanc M., Gessler C. Simple sequence repeats for the genetic analyses of apple. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, vol.96, pp.1069-1079.

6. Maliepaard C., Alston F.H., Van Arkel G., Brown L.M., Chevreau E., Dunemann F., Evans K.M., Gardiner S., Guilford P., Van Heusden A.W., Janse J., Laurens F., Lynn J.R., Manganaris A.G., Den Nijs A.P.M., Periam N., Rikkerink E., Roche P., Ryder C., Sansavini S., Schmidt H., Tartarini S., Verhaegh J.J., Vrielink-Van Ginkel M., King G.L. Aligning male and female linkage maps of apple (*Malus pumilla* Mill.) using multiallelic markers. *Theor. Appl. Genet.*, 1998, vol.97, pp. 60-73.

7. Hokanson S.C., Lamboy W.F., SzewcMcFadden A.K., McFerson J.R. Microsatellite (SSR) variation in a collection of *Malus* (apple) species and hybrids *Euphytica*, 2001, vol. 118, pp. 281-294.

8. Liebhard R., Gianfranceschi L., Koller B. et al. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus x domestica* Borkh.) *Molecular Breeding.*, 2002, vol.10, pp. 217-241. doi.org/10.1023/A:1020525906332

9. Kenis K., Keulemans J. Genetic linkage maps of two apple cultivars (*Malus domestica* Borkh.) based on AFLP and microsatellite markers. *Molecular Breeding*, 2005, vol. 15, pp. 205-219.

10. Silfverberg-Dilworth E., Matasci C.L., Van de Weg W.E., Van Kaauwen M.P. W., Walser M., Kodde L.P., Soglio V., Gianfranceschi L., Durel C.E., Costa F., Yamamoto T., Koller B., Gessler C., Patocchi A. Microsatellite markers spanning the apple (*Malus x domestica* Borkh.) genome. *Tree Genetics & Genomes*, 2006, vol. 2, pp. 202-224.

11. Celton J.-M., Tustin D.S., Chagné D., Gardiner S.E. Construction of a dense genetic linkage map for apple rootstocks using SSRs developed from *Malus* ESTs and *Pyrus* genomic sequences. *Tree Genetics & Genomes*, 2009, vol. 5, pp. 93-107.
12. Collard B., Mackill D., Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Physiological Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2008, vol.363, pp. 557-572.
13. Yunbi Xu, Crouch J. H.. Marker-Assisted Selection in Plant Breeding: From Publications to Practice. *Crop Sci.*, 2008, vol. 48, pp. 391-407. [https://doi: 10.2135/cropsci2007.04.0191](https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0191)
14. Joshi R.K., Nayak S., Gene pyramiding-A broad spectrum technique for developing durable stress resistance in crops. // *Biotechnology and Molecular Biology Review*. - 2010. - Vol.5. - P. 51-60.
15. Pereira-Lorenzo S., Ramos-Carber A.M., Fischer M. Breeding Apple (*Malus × domestica* Borkh.). In Jain, Shri Mohan, Priyadarshan, P.M. (eds.). *Breeding Plantation TreeCrop: Temperate Species*. Springer-Verlag. New York. 2009, pp. 33-81.
16. Velasco Riccardo. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.) / Riccardo Velasco, Andrey Zharkikh, Jason Affourtit. *Nature Genetics*, 2010, vol. 42, pp. 833-839. [https://doi:10.1038/ng.654](https://doi.org/10.1038/ng.654)
17. Velasco Riccardo. The genome of the domesticated apple (*Malus × domestica* Borkh.) / Riccardo Velasco, Andrey Zharkikh, Jason Affourtit. *Nature Genetics*, 2010, vol. 42, pp. 839-841. [https://doi:10.1038/ng.654](https://doi.org/10.1038/ng.654)
18. Guilford P., Prakash S., Zhu J.M., Rikkerink E., Gardiner S., Bassett H., Forster R. Microsatellites in *Malus x domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification. *Theor.Appl.Genet.*, 1997, vol.94, pp. 249-254.
19. Galli Z., Halasz G., Kiss E., Haszky L. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *Hort Sci.*, 2005, vol.40, pp.1974-1977.
20. Shamshin I. N. Ocenka geneticheskogo raznoobraziya sortov i form yabloni s ispol'zovaniem DNK-markerov.- Dissertaciya na soiskanie stepeni kand.biol.nauk. Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut genetiki i selekcii plodovyh rastenij im. I.V. Michurina, 2014.
21. Patocchi A., Walser M., Tartarini S., Broggin G.A.L., Gennari F., Sansavini S. & Gessler C. Identification by genome scanning approach (GSA) of a microsatellite tightly associated with the apple scab resistance gene *Vm* . *Genome*, 2020, vol. 48, pp.630-636.
22. Gessler C., Patocchi A., Sansavini S., Tartarini S. & L. Gianfranceschi (). *Venturia inaequalis* resistance in apple. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2006, vol. 25, pp. 473-503.
23. Savel'ev N.I., Savel'eva N.N., YUshkov A.N. Perspektivnye immunnnye k parshe sorta yabloni: nauchnoe izdanie - Michurinsk-naukograd RF, 2009, 126 s.
24. Khajuria Y.P., Kaul S., Wani A.A. et al. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke. *Tree Genetics & Genomes*, 2018, vol.14, pp. 16. <https://doi.org/10.1007/s11295-018-1226-4>
25. Afunian M.R., Goodwin P.H. Hunter Linkage of *Vfa4* in *Malus x domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Plant Pathology*, 2004, vol. 53, pp. 461-467.
26. Papp D., Singh J., Gadoury D.M., Khan M.A. New North American isolates of *Venturia inaequalis* can overcome apple scab resistance of *Malus floribunda* 821. *Plant Dis.*, 2019, vol.104, no.3, pp.649-55.
27. Vinatzer B., Zhang H., Sansavini S. Construction and characterization of a bacterial artificial chromosome library of apple. *Theoretical and Applied Genetics.*, 1998, vol. 42, pp. 1183-1190.

28. Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S. Development of reliable PCR markers for the selection of the Vf gene conferring scab resistance in apple. *Plant Breeding.*, 1999, vol.118, pp. 183-186.
29. Bekbergen Anel. Marker assisted breeding and screening of apple scab resistance (Vf gene) from columnar apple seedlings by PCR. MSc Thesis/ Green Biotechnology and Food Security/ University of Eastern Finland/Faculty of Science and Forestry/Department of Environmental and Biological Sciences/ September 23. - 2016.
30. Erdin N., Tartarini S., Broggin G.AL., Gennari F., Sansavini S., Gessler C., Patocchi A. Mapping of the apple scab-resistance gene Vb. *Genome*, 2006, vol.49, pp.1238-1245.
31. Suprun I.I., Tokmakov S.V., Stepanov I.V., Ivanova A.M. Razrabotka mul'tipleksnogo nabora dlya markernoj selekcii yabloni na ustojchivost' k parshe. *Nauchnye trudy SKZNIISIV*, 2017, t. 12, c.26-30.
32. Sekiguchi A. Studies on the alternaria leaf spot disease of apples caused by *Alternaria mali* Roberts. *Bul. Nagono Hort. Expt. Sta.*, 1976, vol. 12, pp.1-63.
33. Sawamura K. *Alternaria* blotch, In: Jones, A. and H. Aldwinckle (ed.). Compendium of apple and pear diseases. APS Press: St. Paul., 1990, pp. 24-25.
34. Saito A., Nakazawa N., Suzuki M. Selection of mutants resistant to alternaria blotch from in vitro-cultured apple shoots irradiated with X- and [gamma]-rays. *J. Plant Physiol.*, 2001, vol.158, pp.391-400.
35. Lee, D.H., Lee G.E. Studies on causal agents, overwintering of organisms and control of alternaria leaf spot of apple. *J. Korean Soc. Hort. Sci.*, 1972, vol. 11, pp .41-47.
36. Filajdic N., Sutton T.B. Identification and distribution of *Alternaria mali* on apples in North Carolina and susceptibility of different cultivars of apples to alternaria blotch. *Plant Dis.*, 1991, vol. 75, pp.1045-1048.
37. Zhao L. Detection of RAPD marker linked to the resistance gene to alternaria leaf spot in apples. Northwest A&F University Press, Yang Ling, China. [in Chinese].-2008.
38. Li Haoxian, Cao Shang-yin, Niu Juan, Yuan Pinli, Zhao Diguang and Zhang Fuhong. The Types and Application of Molecular Markers in the Study of Pomegranate Germplasm Resources. [Proc. IIIrd IS on Pomegranate and Minor Mediterranean Fruits]. *Acta Hort.* -1089, ISHS., 2015.
39. Moriya S., Terakami S., Okada K. et al. Identification of candidate genes responsible for the susceptibility of apple (*Malus × domestica* Borkh.) to *Alternaria* blotch. *BMC Plant Biol.*, 2019, vol.19, pp.132. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1737-7>
40. Brisset M.N., Faize,M., Heintz C., Cesbron S., Chartier R., Tharaud, M. and Paulin, J.P. Induced resistance to *Erwinia amylovora* in apple and pear. *Acta Hort.* 2002, vol. 590, pp. 335-338. <https://doi: 10.17660/ActaHortic.2002.590.49>
41. Dondini L., Pierantoni L., Gaiotti F. et al. Identifying QTLs for fire-blight resistance via a European pear (*Pyrus communis* L.) genetic linkage map. *Mol. Breed.*, 2004, vol. 14, pp. 407-418.
42. Durel C.E., Guérif P., Belouin A., Le Lezec M. Estimation of Fire Blight Resistance Heritability in the French Pear Breeding Program Using a Pedigree-Based Approach. *Acta Hort.*, 2004, vol. 663, pp. 251-256. <https://doi: 10.17660/ ActaHortic. 2004.663.40>.
43. Calenge F., Drouet D., Denance C., Vande Weg W.E., Brisset M. N., Paulin J.P., Durel C-E. Identification of a major QTL together with several minor additive or epistatic QTLs for resistance to fire blight in apple in two related progenies. *Theor.appl. Genet.*, 2005, vol.111, pp. 128-135.

44. Khan M.A., Duffy B., Durel C.E., Gessler C., Patocchi A. QTL mapping of fire blight resistance in apple. *Mol. Breed.*, 2006, vol.17, pp.299-306.
45. Khan M.A., Durel C.-E., Duffy B. et al. Development of molecular markers linked to the 'Fiesta' linkage group 7 major QTL for fire blight resistance and their application for marker-assisted selection. *Genome*, 2007, vol. 50, pp. 568-577.
46. Markussen T., Krüger J., Schmidt H.& Dunemann F. Identification of PCR-based markers linked to the powdery mildew resistance gene Pl1 from *Malus robusta* in cultivated apple. *Plant Breed.*, 1995, vol.114, pp. 530-534.
47. Seglias N.P., Gessler C. Genetics of apple powdery mildew resistance derived from *Malus zumi* (Pl2). *IOBC/WPRS BULL.*, 1997, vol.20, no.9, pp. 195-208.
48. Gardiner S., Murdoch J., Meech S. et al. Candidate resistance genes from an EST database prove a rich source of markers for major genes conferring resistance to important apple pests and diseases. *Acta Hort.*, 2003, vol. 622, pp. 141-151.
49. Urbanovich O.YU., Kozlovskaya Z.A., Kartel' N.A. Rasprostranenie genov ustojchivosti k muchnistoj rose v kollekcii sortov i vidov yabloni, vyrashchivaemyh v Belarusi. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika. Molekulyarnaya i prikladnaya genetika: sbornik nauchnyh trudov / Institut genetiki i citologii.* - Minsk, 2010, t. 11. - s. 20-25.
50. Oliveira C.M., Mota M., Monte-Corvo L., Goulao L., Silva D.M. Molecular typing of *Pyrus* based on RAPD markers. *Sci Hort.*, 1999, vol. 79, pp.163-174.
51. Bell R.L., Quamme H.A., Layne R.E.C., Skirvin R.M. Pears. In: J Janick & J N Moore (Eds.), *Fruit Breeding.*, 1996, vol. 1, pp. 441- 514.
52. Belaj A., Satovic Z., Rallo L., Trujillo I. Genetic diversity and relationships in olive (*Olea europaea* L.) germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA. *Theor Appl Genet.*, 2002, vol. 105, pp.638-64.
53. Safarpour S.M., Bahar M., Tabatabaei B., Abdollahi A. Determination of genetic diversity in pear (*Pyrus* spp.) using microsatellite markers. *Iran J Hort Sci Technol.*, 2008, vol.9, no.2, pp.113-128.
54. Chagne D., Crowhurst R.N., Pindo M., Thrimawithana A., Deng C., Ireland H., Fiers M., Dzierzon H., Cestaro A., Fontana P. The draft genome sequence of European pear (*Pyrus communis* L. «Bartlett»). *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 4, e92644.
55. Bouvier L., Bourcy M., Boulay M., Tellier M., Guerif P., Denance C., Durel C.-E., Lespinasse Y. A new pear scab resistance gene Rvp1 from the European pear cultivar "Navara" maps in a genomic region syntenic to an apple scab resistance gene cluster on linkage group 2. *Tree Genet. Genomes.*, 2012, vol. 8, pp.53-60. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0419-x>
56. Bokszczanin K., Dondini L., Przybyla A.A. First report on the presence of fire blight resistance in linkage group 11 of *Pyrus ussuriensis* Maxim. *J. Appl. Genet.*, 2009, vol. 50, no. 2, pp. 99-104.
57. Montanari S., Percepied L., Renault D., Frijters L., Velasco R. Horner H. Gardiner S.E. Chagne' D. Bus V. Durel C.-E. Malnoy M. A QTL detected in an interspecific pear population confers stable fire blight resistance across different environments and genetic backgrounds. *Mol Breeding.*, 2016, vol. 36, pp.47.
58. Dondini, L. et al., Identification of a QTL for psylla resistance in pear via genome scanning approach. *Sci. Hort.*, 2015, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.018>
59. Teixeira da Silva J.A., Rana T.S., Narzary D., Verma N., Meshram D.T., Ranade S.A. Pomegranate biology and biotechnology: a review. *Sci Hort.*, 2013, vol.160, pp.85-10.
60. Levin G.K., Pomegranate (*Punica granatum*) plant genetic resources in Turkmenistan. *Plant Genet. Res. Newslett.*, 1994, vol.97, pp. 31-37.

62. Rana J.C., Pradheep K., Verma V. Naturally occurring wild relatives of temperate fruits in Western Himalayan region of India: an analysis. *Biodivers Conserv.*, 2007, vol. 16, no.14, pp.3963-3991.
63. Hasnaoui Nejib, Anna Buonamici, Federico Sebastiani, Messaoud Mars, Dapeng Zhange, Giovanni G. Vendramin. Molecular genetic diversity of *Punica granatum* L. (pomegranate) as revealed by microsatellite DNA markers (SSR). *Gene*, 2012, vol.493, pp. 105-112.
64. Ying Li, Liyi Zhang, Zhen Zhang, Peihua Cong, Zong-Ming Cheng. A Simple Sequence Repeat Marker Linked to the Susceptibility of Apple to *Alternaria* Blotch Caused by *Alternaria alternata* Apple Pathotype. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 2011, vol.136, no.2, pp.109-115.
65. Pirseyedi S.M., Valizadehgan S., Mardi M., Ghaffari M.R., Mahmoodi P., Zahravi M., Zeinalabedini M., Khayam-Nekoui S.M. Isolation and characterization of novel microsatellite markers in pomegranate (*Punica granatum* L.). *Int. J. Mol. Sci.*, 2010, vol. 11, pp. 2010-2016.
66. Basaki Tayebe, Choukan Rajab, Seyed Mojtaba Khayam Nekouei, Mohsen Mardi, Eslam Majidi, Sakine Faraji and Mehrshad Zeinolabedini. Association Analysis for Morphological Traits in Pomegranate (*Punica granatum* L.) Using Microsatellite Markers. *Middle-East Journal of Scientific Research.*, 2011, vol.9, no.3, pp. 410-417.
67. Singh N.V., Abburi V.L., Ramajayam D., Kumar R., Chandra R., Sharma K.K., Sharma J., Babu K.D. et.al. Genetic diversity and association mapping of bacterial blight and other horticulturally important traits with microsatellite markers in pomegranate from India. *Mol Genet Genomics.*, 2015, vol.290, no.4, pp. 1393-402. [http://doi: 10.1007/s00438-015-1003-0](http://doi:10.1007/s00438-015-1003-0).

ДНҚ МАРКЕРЛЕРДІҢ КӨМЕГІМЕН ЖЕМІС АҒАШТАРЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ АЛУАНТҮРЛІЛІГІН ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ НЕГІЗГІ ПАТОГЕНДЕРГЕ ТӨЗІМДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

Абдуллаев А., Абдурахимов А., Режапова М.

*Инновациялық даму министрлігі жанындағы Озық технологияла
орталығы, Өзбекстан Республикасы
Талабалар шахарчаси көшесі, 3 а, Ташкент, 100174, Өзбекстан.
abdullaev_alisher@yahoo.com, mrejavova@gmail.com*

ТҮЙІН

Жеміс ағаштарының заманауи сорттарына қол жеткізу коммерциалық сорттарының геномында пайдалы қасиеттерін көшіру және бекіту мақсатында олардың гендерін көзі ретінде биологиялық алуантүрлілігін зерттеп тануды талап етеді. Геномдық технологияларды қолдану селекциялық процесті тездетуге едәуір ықпал етеді. Генетикалық алуантүрлілігін, сорттарына қарай сәйкестендіру үшін ДНҚ маркерлерді айқындау мен оларды қолдану бойынша, сондай-ақ маркерлік селекциялау арқылы олармен шоғырланған шаруашылықта құнды белгілері бар гендерді көшіру мақсатында зерттеулердің қолданбалы маңызы зор. Мақалада кейбір жеміс ағаштарының негізгі ауру түрлеріне төтеп беретін гендерімен бірге шоғырланған гендерді және олардың ДНҚ маркерлерін айқындау бойынша жүргізілген зерттеулердің нәтижелері қарастырылған.

Негізгі сөздер: ДНҚ-маркер, гендер, локустар, идентификация, төзімділік.

STUDY OF GENETIC DIVERSITY AND RESISTANCE OF FRUIT CROPS TO MAIN PATHOGENS USING DNA MARKERS

Abdullaev A., Abdurakhimov A., Rejavova M.

*Center for Advanced Technologies under the Ministry of Innovative Development
of the Republic of Uzbekistan,
3 a, Talabalar shaharchasi str., Tashkent, 100174, Uzbekistan.
abdullaev_alisher@yahoo.com, mrejavova@gmail.com*

ABSTRACT

Breeding modern varieties of fruit crops requires the study of their biodiversity as a source of genes for useful traits, with the aim of transferring them to genome of commercial varieties. Application of genomic technologies can significantly speed up the breeding process. Identification and application of DNA markers for the study of genetic diversity, varietal identification, as well as the transfer of genes of valuable economic traits through marker assisted selection programs is of great applied importance. The article discusses the results of studies to identify genes and DNA markers associated with resistance of some fruit crops to major diseases.

Key words: DNA marker, genes, loci, identification, resistance.