



Отбор перспективных генотипов яблони на колонновидность и устойчивость к парше с помощью диагностических ДНК-маркеров

Н.И. Савельев, А.С. Лыжин, Н.Н. Савельева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и селекции плодовых растений им. И.В. Мичурина, Мичуринск, Россия

Моногенная устойчивость к парше и колонновидный габитус кроны являются важными селекционными признаками яблони. Использование молекулярных маркеров позволяет с высокой надежностью на ранних этапах онтогенеза определить присутствие необходимых генов в геноме и сократить время селекционного процесса. Целью настоящего исследования являлось молекулярно-генетическое тестирование исходных форм и гибридных сеянцев яблони для идентификации носителей целевых аллелей генов моногенной устойчивости к парше (*Rvi6*) и колонновидного габитуса кроны (*Co*), а также уточнение характера наследования генов *Co* и *Rvi6* в гибридном потомстве. Представлены результаты молекулярно-генетического анализа сортов Валюта, Успенское, Белорусское сладкое и сеянцев гибридных семей Валюта × Успенское, Валюта × Белорусское сладкое по генам колонновидного габитуса кроны (*Co*) и устойчивости к парше (*Rvi6*). Присутствие доминантного аллеля гена *Co* диагностировали с помощью праймеров 29f1 и JW11r, фланкирующих с 5'-конца инсерцию в окологенной области локуса *Co* колонновидных генотипов, аллельное состояние гена *Rvi6* определяли с помощью диагностического ДНК-маркера AL07-SCAR, картированного на расстоянии около 0,2 cM от гена. Определено соотношение частот наследования аллельных состояний указанных генов. В комбинации скрещивания Валюта × Успенское количество колонновидных генотипов составило 48,1 %, обладающих иммунитетом к парше – 77,8 %; в комбинации скрещивания Валюта × Белорусское сладкое – 46,8 и 68,0 % соответственно, что согласуется с теоретически ожидаемым расщеплением по признаку колонновидности 1 : 1, по устойчивости к парше – 3 : 1. Проанализировано совместное наследование признаков колонновидного габитуса кроны и моногенной устойчивости к парше. Идентифицированы гибридные сеянцы, совмещающие в геноме доминантный аллель гена *Co* с геном *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии (*Rvi6Rvi6*), что позволит значительно интенсифицировать селекционный процесс, обеспечивая получение 100 % сеянцев с моногенной устойчивостью к парше и до 50 % – с колонновидным габитусом кроны.

Ключевые слова: яблоня; маркер-опосредованная селекция; молекулярные маркеры; колонновидность; устойчивость к парше.

Selection of promising apple genotypes for columnar growth habit and scab resistance using diagnostic DNA markers

N.I. Savel'ev, A.S. Lyzhin, N.N. Savel'eva

I.V. Michurin All-Russian Scientific Institute for Genetic and Breeding of Fruit Plants, Michurinsk, Russia

Monogenic scab resistance and columnar growth habit are important breeding traits of apple. The use of molecular markers very accurately determines the presence of necessary genes in the genome early during ontogenesis and reduces the time of selection. The purpose of this study was molecular genetic testing of initial forms of apple and hybrid seedlings of apple to identify carriers of the target alleles of genes for monogenic scab resistance (*Rvi6*) and columnar growth habit (*Co*) and the clarification of the pattern of inheritance of the *Co* and *Rvi6* genes in hybrid progeny populations. This paper presents the results of molecular genetic analysis of varieties Valuta, Uspenskoe, Belarusskoe sladkoe and seedlings of the Valuta × Uspenskoe and Valuta × Belarusskoe sladkoe hybrid families for genes controlling columnar growth habit (*Co*) and scab resistance (*Rvi6*). The presence of the dominant allele of the *Co* gene was diagnosed with primers 29f1 and JW11r flanking the 5'-end of the insert at the *Co* locus controlling columnar genotypes. Allelic status of the *Rvi6* gene was determined with the AL07-SCAR marker mapping at about 0.2 cM from the *Rvi6* locus. The correlation frequency of inheritance of the allelic states of these genes has been determined. Valuta × Uspenskoe crosses yielded 48.1 % columnar genotypes and 77.8 % scab-immune genotypes; Valuta × Belarusskoe sladkoe crosses, 46.8 % and 68.0 %, respectively. The observed segregation conforms to the expected Mendelian ratios: 1 : 1 for columnar habit and 3 : 1 for scab resistance. The joint inheritance of columnar growth habit and monogenic resistance to scab has been analyzed. The hybrid seedlings that had the dominant *Co* allele together with the *Rvi6* gene in the homozygous dominant state (*Rvi6 Rvi6*) in their genome have been identified, which can significantly intensify the selection process and run it into 100 % of hybrid seedlings with monogenic scab resistance and up to 50 % of genotypes with columnar growth habit.

Key words: apple; marker-assisted selection; molecular markers; columnar; scab resistance.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Савельев Н.И., Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Отбор перспективных генотипов яблони на колонновидность и устойчивость к парше с помощью диагностических ДНК-маркеров. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(3):329-332. DOI 10.18699/VJ16.122

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Savel'ev N.I., Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Selection of promising apple genotypes for columnar growth habit and scab resistance using diagnostic DNA markers. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(3):329-332. DOI 10.18699/VJ16.122

ORIGINAL ARTICLE

Received 01.10.2015 r.

Accepted for publication 23.11.2015 r.

© AUTHORS, 2016

✉ e-mail: Ranenburzhetc@yandex.ru

Создание сортов яблони колонновидного габитуса кроны с моногенно детерминированной устойчивостью к парше является важной селекционной задачей. Колонновидные формы яблони, обладающие компактной формой кроны вследствие отсутствия бокового ветвления, позволяют размещать 10–20 тыс. саженцев на гектар сада при продуктивности 80–100 т/га, а иммунитет к парше обеспечивает снижение пестицидной нагрузки на садовые агроценозы и повышение рентабельности товарного производства (Кичина, 2002; Савельева, 2014).

К настоящему времени известно 17 генов, контролирующих устойчивость яблони к парше (Bus et al., 2011), из которых наибольшее распространение в селекционной работе получил ген *Rvi6* (V_f), локализованный в группе сцепления 1 в локусе гомологичных рецептор-подобных генов *HcrV_f1*, *HcrV_f2*, *HcrV_f3*, *HcrV_f4*, из которых моногенную устойчивость к парше детерминирует паралог *HcrV_f4* (Vinatzer et al., 2001; Afunian et al., 2004).

Колонновидный габитус кроны контролируется доминантным геном *Co*, картированным в группе сцепления 10 (Tian et al., 2005; Moriya et al., 2009). На хромосоме локус *Co* расположен в диапазоне 18,76–18,92 Мб (Moriya et al., 2012; Baldi et al., 2013; Morimoto, Banno, 2015). Потенциальными кандидатами гена *Co* являются AP2/ERF, bHLH, MYB и NAM факторы транскрипции (Baldi et al., 2013), а также ген *MdCo31*, регулирующий экспрессию 2OG-Fe (II) оксигеназы (Wolters et al., 2013).

Вместе с тем полевая идентификация носителей целевых аллелей генов *Rvi6* и *Co* базируется на анализе фенотипических показателей проявлений признаков и не всегда позволяет надежно выявить нужные генотипы в молодом возрасте (Савельев, 1998; Urbanovich, Kazlovskaya, 2008; Moriya et al., 2009). Поэтому все большее значение в селекции приобретают современные молекулярно-генетические методы анализа генома растений на основе ДНК-маркеров (Shupert et al., 2004; Boudichevskaya et al., 2006; Patrascu et al., 2006). Использование методов молекулярного маркирования обеспечивает эффективный отбор носителей хозяйственно ценных признаков на ранних этапах развития непосредственно по наличию целевых генов в генотипе, что позволяет значительно ускорить процесс создания новых сортов. К настоящему времени достигнуты определенные успехи по использованию ДНК-маркерных технологий в селекции яблони: так, например, О.Ю. Урбанович с коллегами получены генотипы, содержащие в составе генома гены устойчивости к парше (*Rvi6*), красногалловой яблонной тле (*Sd1*), QTL устойчивости к бактериальному ожогу и аллель 2 гена *Md-ACS1* в гомозиготной форме, определяющий сниженный уровень биосинтеза этилена в плодах (Урбанович и др., 2010). И.О. Baumgartner с коллегами получили генотипы, совмещающие в геноме три гена устойчивости к парше (*Rvi6*, *Rvi2*, *Rvi4*) в доминантном гомозиготном состоянии (Baumgartner et al., 2015).

Цель настоящего исследования – молекулярно-генетическое тестирование исходных форм и гибридных сеянцев яблони для идентификации носителей доминантных аллелей генов моногенной устойчивости к парше (*Rvi6*) и колонновидного габитуса кроны (*Co*), а также уточнение характера наследования генов *Co* и *Rvi6* в гибридном потомстве.

Материалы и методы

В качестве биологических объектов исследования использованы сорта яблони, а также сеянцы гибридных семей Валюта × Успенское, Валюта × Белорусское сладкое.

Экстракция геномной ДНК была проведена по методу Diversity Arrays Technology P/L (DArT) (www.DiversityArrays.com) с модификациями. Амплификацию проводили в приборе T100 Thermal Cycler производства фирмы «BIO-RAD». Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 2,5 мМ 10x Taq-буфера ((NH₄)₂SO₄, –KCL). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

Для молекулярной идентификации гена колонновидного габитуса кроны (*Co*) использовали маркер 29f1-JW11r. Амплификацию проводили с праймерами (5'CCTGGATCTAAAAGCCCCATA3') и JW11r (5'AACC AAACACCCACCCATTA3'), фланкирующими с 5'-конца инсерцию в экологической области локуса *Co* колонновидных генотипов (Wolters et al., 2013). Амплификацию проводили в режиме: 95 °C – 10 мин, 35 циклов: 95 °C – 30 с, 59 °C – 1 мин, 72 °C – 30 с; 72 °C – 10 мин.

Для идентификации в геноплазме яблони аллельного состояния гена *Rvi6*, детерминирующего моногенную устойчивость к парше, использовали кодоминантный маркер AL07-SCAR, расположенный на расстоянии 0,2 сМ от гена (Xu, Korban, 2000). Праймерные пары имели следующую последовательность: AL07F 5'TGGAAGAGAGATCCAGAAAGTG3', AL07R 5'CATCCCTCCACAAATGCC3' (Tartarini et al., 1999). Амплификацию проводили в режиме: 94 °C – 4 мин, 35 циклов: 94 °C – 30 с, 60 °C – 1 мин, 72 °C – 2 мин; 72 °C – 8 мин.

Использованные в работе праймеры синтезированы ЗАО «Синтол» (г. Москва).

Разделение продуктов амплификации осуществляли методом электрофореза в 2 % агарозном геле при напряженности электрического поля 3,9–4,5 В/см. Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркер молекулярной массы GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Результаты

В результате амплификации геномной ДНК с праймерами 29f1 и JW11r нами получены электрофоретические спектры исходных форм и гибридных сеянцев яблони для гена *Co*, определяющего колонновидный габитус кроны. Примеры электрофоретических спектров приведены на рисунке (а, б).

Установлено, что в результате амплификации геномной ДНК сорта Валюта, обладающего колонновидным фенотипом, выявляется фрагмент 5'CR размером 586 п.н., характерный для колонновидных форм. Сорта Успенское и Белорусское сладкое, характеризующиеся обычным габитусом кроны, идентифицированы как неколонновидные (фрагмент 5'CR, на электрофореграммах отсутствует).

На основании анализа полученных электрофоретических спектров маркера 29f1-JW11r гибридное потомство указанных сортов дифференцировано по габитусу кроны. В комбинации скрещивания Валюта × Успенское из 52 сеянцев 25 генотипов идентифицированы как колонно-

видные и 27 – с обычным габитусом кроны; в комбинации Валюта × Белорусское сладкое из 47 семян – 22 и 25 генотипов соответственно.

Для выявления аллельного состояния гена *Rvi6* была проведена амплификация геномной ДНК исходных форм и гибридных семян яблони с праймером AL07-SCAR. Доминантному аллелю гена соответствует фрагмент размером 570 п. н., рецессивному – 823 п. н. Присутствие обоих фрагментов свидетельствует о гетерозиготном состоянии гена (Patrascu et al., 2006).

Сорта Валюта, Успенское, Белорусское сладкое несут ген *Rvi6* в гетерозиготном состоянии (*Rvi6rvi6*). В гибридном потомстве идентифицировано три комбинации аллелей гена *Rvi6* – *Rvi6Rvi6*, *Rvi6rvi6*, *rvi6rvi6*.

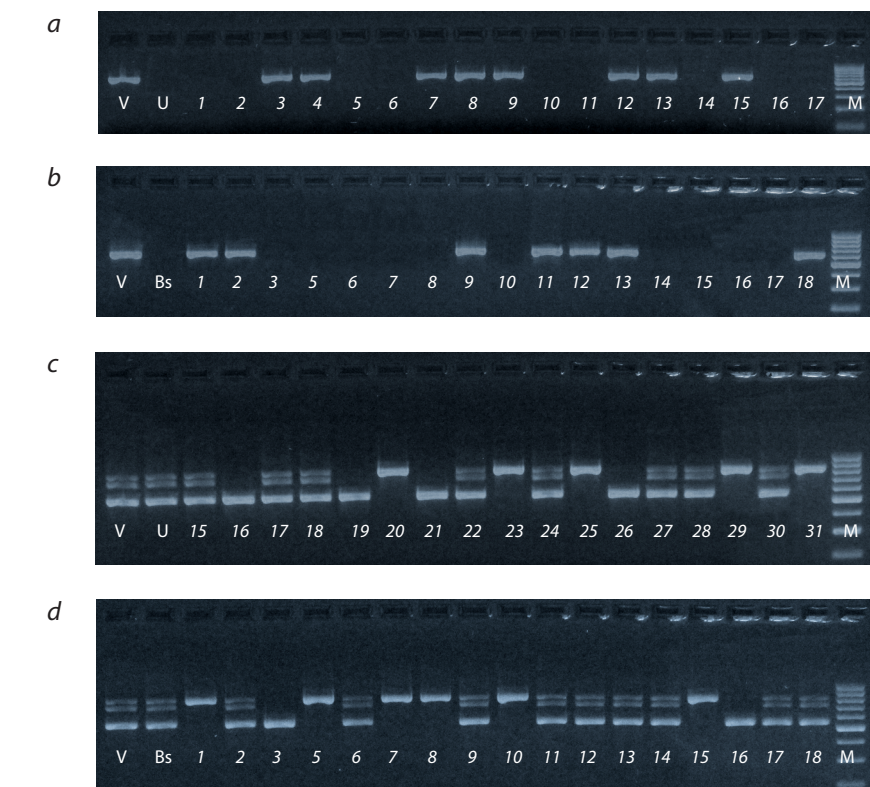
В комбинации скрещивания Валюта × Успенское выделен 41 сеянец, несущий доминантный аллель гена *Rvi6*, из которых 12 являются доминантными гомозиготами по гену *Rvi6*, а 30 семян несут ген *Rvi6* в гетерозиготном состоянии. 12 генотипов не имеют доминантного алеля гена *Rvi6* и являются рецессивными гомозиготами. Пример идентификации представлен на рисунке (в).

В комбинации скрещивания Валюта × Белорусское сладкое доминантный аллель гена *Rvi6* идентифицирован у 34 генотипов. Из них семь несут ген *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии, а 27 являются гетерозиготами. Рецессивным гомозиготным состоянием гена *Rvi6* обладают 16 генотипов. Пример идентификации представлен на рисунке (з).

Обсуждение

К настоящему времени выявлено большое количество ДНК-маркеров, сцепленных с геном *Co* (Tian et al., 2005; Bai et al., 2012; Moriya et al., 2012; Baldi et al., 2013), однако их использование не всегда позволяет с высокой надежностью выявить колонновидные генотипы (Moriya et al., 2009; Пикункина и др., 2013). В связи с этим подбор высокоинформативных маркеров гена *Co* является важной задачей в селекции яблони на колонновидность.

Согласно современным представлениям, колонновидный габитус кроны яблони обусловлен мутацией



Electrophoretic profiles of markers in hybrid progenies.

(a) marker 29f1-JW11r, Valuta × Uspenskoe; (b) marker 29f1-JW11r, Valuta × Belorusskoe sladkoe; (c) marker AL07-SCAR, Valuta × Uspenskoe; (d) marker AL07-SCAR, Valuta × Belorusskoe sladkoe. V, Valuta; U, Uspenskoe; Bs, Belorusskoe sladkoe; M, DNA ladder. Enumerated are hybrid seedlings.

(инсерция размером 1956 п. н.) в окологенной области локуса *Co*, приводящей к увеличению экспрессии 2OG-Fe (II) оксигеназы в пазушных почках. Праймеры 29f1 и JW11r детектируют наличие в геноме данной инсерции, позволяя дифференцировать колонновидные и неколонновидные формы (Wolters et al., 2013).

Проведенные нами ранее исследования (Савельев и др., 2015) на сортах яблони с обычным и колонновидным габитусом кроны подтвердили высокую надежность и информативность маркера 29f1-JW11r, что позволяет использовать его для массовой оценки гибридного потомства.

В анализируемых комбинациях скрещивания донором доминантного аллеля гена *Co* является используемый в качестве материнской формы сорт Валюта. Отцовские формы Успенское и Белорусское сладкое характеризуются обычным типом кроны и являются рецессивными гомозиготами по гену *Co*.

Статистический анализ результатов амплификации геномной ДНК гибридных семян яблони с праймерами 29f1 и JW11r показал, что в комбинации скрещивания Валюта × Успенское количество колонновидных генотипов составило 48,1 %, а в потомстве от скрещивания Валюта × Белорусское сладкое – 46,8 %. Доля генотипов с обычным габитусом кроны в указанных комбинациях составила 51,9 и 53,2 %. Фактическое расщепление между колонновидными и неколонновидными генотипами соответствует теоретически ожидаемому 1 : 1 ($\chi^2 = 0,076$ и $0,191$, что значительно меньше критического 3,84).

Использованные в гибридизации исходные формы являются гетерозиготами по гену *Rvi6*, что теоретически позволяет получить до 75 % устойчивых семян. Математическая обработка электрофоретических спектров маркера AL07-SCAR показала, что в комбинации скрещивания Валюта × Успенское доля иммунных к парше генотипов составила 77,8 %. При этом 55,6 % семян характеризуются гетерозиготным сочетанием аллелей, а 22,2 % (сеянцы № 3-10-9; 3-10-11; 3-10-12; 3-10-16; 3-10-19; 3-10-21; 3-10-26; 3-10-36;

3-10-40; 3-10-44; 3-10-49; 3-10-50) – доминантные гомозиготы по гену *Rvi6*.

В гибридном потомстве семьи Валюта × Белорусское сладкое выделено 68,0 % устойчивых к парше сеянцев, из которых 20,6 (сеянцы № 7-12-3; 7-12-16; 7-12-24; 7-12-2; 7-12-32; 7-12-3; 7-12-39) обладают гомозиготным доминантным, а 79,4 % – гетерозиготным сочетанием аллелей гена *Rvi6*.

Полученные результаты наследования моногенной устойчивости к парше по гену *Rvi6* соответствуют теоретически ожидаемому расщеплению по фенотипу 3 : 1, а соотношение аллельных состояний гена *Rvi6* – теоретическому 1 : 2 : 1. Значения критерия χ^2 для фенотипического проявления признака составили 0,222 для гибридной семьи Валюта × Успенское и 1,306 для комбинации Валюта × Белорусское сладкое при уровне значимости 0,05. При оценке расщепления по генотипу значения критерия χ^2 составили 0,666 и 3,560 соответственно при критическом значении 5,99 для уровня значимости 0,05.

Важным направлением селекции яблони является совмещение в одном генотипе комплекса хозяйственно ценных признаков. Гены *Rvi6* и *Co* локализованы в разных группах сцепления (1 и 10 соответственно) и наследуются независимо друг от друга. Оценка совмещения в генотипе обоих генов на основе молекулярно-генетического анализа позволила идентифицировать генотипы, сочетающие колонновидный габитус кроны с устойчивостью к парше по гену *Rvi6*.

В комбинации скрещивания Валюта × Успенское выделено 40,4 % колонновидных сеянцев с доминантным аллелем гена *Rvi6*. Из них 71,4 % – несут ген *Rvi6* в гетерозиготном состоянии, а 28,6 % (сеянцы № 3-10-9; 3-10-12; 3-10-19; 3-10-26; 3-10-36; 3-10-48) сочетают в своем генотипе колонновидный габитус кроны (ген *Co*) и ген *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии (*Rvi6Rvi6*).

В комбинации скрещивания Валюта × Белорусское сладкое доля иммунных к парше сеянцев яблони с колонновидным габитусом кроны составила 33,3 % от общего количества генотипов, из которых 88,2 % – с гетерозиготным сочетанием аллелей гена *Rvi6*. В данной комбинации скрещивания сочетание колонновидного габитуса кроны с доминантным гомозиготным состоянием гена *Rvi6* выявлено у сеянцев № 7-12-32 и № 7-12-33.

Таким образом, использование методов молекулярного ДНК-маркирования для анализа наличия в геноме гибридного потомства яблони функциональных аллелей целевых генов позволяет с высокой эффективностью выявлять перспективные генотипы с заданными параметрами признаков.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

Afuniy M.R., Goodwin P.H., Hunter D.M. Linkage *Vfa4* in *Malus domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. Plant Pathol. 2004;53:461-467. DOI 10.1111/j.1365-3059.2004.01047.x

Bai T., Zhu Y., Fernandez-Fernandez F., Keulemans J., Brown S., Xu K. Fine genetic mapping of the *Co* locus controlling columnar growth habit in apple. Mol. Genet. Genomics. 2012;287:437-450. DOI 10.1007/s00438-012-0689-5

Baldi P., Wolters P.J., Komjanc M., Viola R., Velasco R., Salvi S. Genetic and physical characterisation of the locus controlling columnar habit in apple (*Malus × domestica* Borkh.). Mol. Breeding. 2013;31:429-440. DOI 10.1007/s11032-012-9800-1

Baumgartner I.O., Patocchi A., Frey J.E., Peil A., Kellerhals M. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous resistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight. Plant Mol. Biol. 2015;33:1573-1583. DOI 10.1007/s11105-015-0858-x

Boudichevskaia A., Flachowsky H., Peil A., Fischer C., Dunemann F. Development of multiallelic SCAR marker for the scab resistance gene *Vr1/Vh4/Vx* from R12740-7A apple and its utility for molecular breeding. Tree Genet. Genomes. 2006;2(4):186-195. DOI 10.1007/s11295-006-0043-3

Bus V.G.M., Rikkerink E.H.A., Caffier V., Durel C.-E., Plummer K.M. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. Annu. Rev. Phytopathol. 2011;49:391-413.

Kichina V.V. Kolonovidnye yablони [Columnar Apple Genotypes]. Moscow, 2002.

Morimoto T., Banno K. Genetic and physical mapping of *Co*, a gene controlling the columnar trait of apple. Tree Genet. Genomes. 2015; 11:807. DOI 10.1007/s11295-014-0807-0

Moriya S., Iwanami H., Kotoda N., Takahashi S., Yamamoto T., Abe K. Development of a marker-assisted selection system for columnar growth habit in apple breeding. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 2009;78(3):279-287.

Moriya S., Okada K., Haji T., Yamamoto T., Abe K. Fine mapping of *Co*, a gene controlling columnar growth habit located on apple (*Malus × domestica* Borkh.) linkage group 10. Plant Breeding. 2012;131(5):641-647. DOI 10.1111/j.1439-0523.2012.01985.x

Patrascu B., Pamfil D., Sestras R., Botez C., Gaboreanu I., Barbos A., Qin C., Raluca R., Bondrea I., Dirle E. Marker assisted selection for response attack of *Venturia inaequalis* in different apple genotypes. Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj. 2006;XXXIV:121-132.

Pikunova A.V., Sedov E.N., Serova Z.M. Rezultaty genotipirovaniya 19 sortobraztsov yablони selektsii VNIISPК po mikrosatelitnym lokusam [The results of microsatellite genotyping of 19 apple varieties bred at the All-Russia Research Institute for Fruit Crop Breeding]. Seleksiya, genetika i sortovaya agrotehnika plodovykh kultur [Breeding, genetics, and variety-specific agrotechnology of fruit crops]. Orel, All-Russia Research Institute for Fruit Crop Breeding, 2013.

Savel'ev N.I. Geneticheskie osobennosti selektsii yablони [Genetic Features of Apple Breeding]. Michurinsk, 1998.

Savel'ev N.I., Lyzhin A.S., Kudryavtsev A.M., Boris K.V., Shamshin I.N. Use of molecular markers for identification of columnar apple genotypes. Doklady Rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk = Proceedings of the Russian Academy of Agricultural Sciences. 2015;4:8-9.

Savel'eva N.N. Geneticheskie osobennosti i metodicheskie podkhody v selektsii immunnykh k parshe i kolonovidnykh sortov yablони [Genetic Features and Methods in Breeding of Scab-Immune and Columnar Apple Varieties.]. Michurinsk, The RF Research Center, 2014.

Shupert D., Smith A.P., Janick J., Goldsbrough P.B., Hirst P.M. Segregation of scab resistance in three apple populations: molecular marker and phenotypic analyses. HortScience. 2004;39(6):1183-1184.

Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S., Gessler C. Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple. Plant Breeding. 1999;118:183-186.

Tian Y.-K., Wang C.-H., Zhang J.-S., James C., Dai H.-Y. Mapping *Co*, a gene controlling the columnar phenotype of apple, with molecular markers. Euphytica. 2005;145:181-188. DOI 10.1007/s10681-005-1163-9

Urbanovich O.Y., Kazlovskaya Z.A. Identification of scab resistance genes in apple trees by molecular markers. Sodininkyste ir Darzininkyste. 2008;27(2):347-357.

Urbanovich O.Yu., Kazlovskaya Z.A., Zablotskaya E.A., Vaseha V.V., Kartel N.A. Application of molecular marker at developing apple hybrid seedling with a complex of economically valuable genes. Izvestiya Nacionalnoy akademii nauk Belarusi. Seriya biologicheskikh nauk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2010;2:25-31.

Vinatzter B.A., Patocchi A., Gianfranceschi L., Tartarini S., Zhang H.-B., Gessler C., Sansavini S. Apple contains receptor-like genes homologous to the *Cladosporium fulvum* resistance gene family of tomato with a cluster of genes cosegregating with *Vf* apple scab resistance. Mol. Plant Microbe In. 2001;14(4):505-515.

Xu M.L., Korban S.S. Saturation mapping of the apple scab resistance gene *Vf* using AFLP markers. Theor. Appl. Genet. 2000;101:844-851.

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;200:993-999. DOI 10.1111/nph.12580