Научная статья
УДК 634.11:632.4
DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o2

(cc) BY

Анализ генов устойчивости к парше и бактериальному ожогу у сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства с использованием молекулярных маркеров

И. Н. Шамшин[1], Д. Д. Тележинский[2], А. В. Шлявас[3]

[1] Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

[2] Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр, Екатеринбург, Россия

[3] Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Иван Николаевич Шамшин, ivan_shasmhin@mail.ru

Актуальность. На Свердловской селекционной станции садоводства созданы уникальные сорта яблони, адаптированные к выращиванию в суровых природно-климатических условиях Среднего Урала. Резкие перепады температур и значительное количество осадков в летний период способствуют развитию грибных и бактериальных болезней. Поэтому главным направлением селекции является создание форм с комплексом генов устойчивости к различным типам заболеваний. Для поиска источников ценных признаков актуальным остается использование метода молекулярных маркеров, который сокращает сроки анализа и позволяет проводить отбор непосредственно по наличию гена, а не по внешнему проявлению признака. Целью нашей работы был поиск генов устойчивости к парше и бактериальному ожогу у сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства с использованием ДНК-маркеров. Для исследования были использованы: маркер VfC гена устойчивости к парше *Rvi6*, маркеры AE10-375 и GE-8019 QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу яблони. Проведено сравнение результатов молекулярной идентификации гена устойчивости к парше и оценки полевой устойчивости исследуемых сортов в годы эпифитотий. Проанализирован 21 сорт яблони. **Результаты.** В ходе проведенных исследований ген *Rvi6* идентифицирован у трех сортов яблони – ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’ и ‘Благая Весть’. Оценка полевой устойчивости к парше показала отсутствие поражения у ряда сортов. Установлено, что все сорта с фрагментом, являющимся свидетельством наличия гена *Rvi6*, не поражались паршой в годы соответствующих эпифитотий. У сортов ‘Таватуй’, ‘Розочка’, ‘Данила’, ‘ВЭМ Розовый’ и ‘Родниковая’ также отмечается отсутствие признаков заболевания. Анализ родословной показал, что при их создании были использованы доноры устойчивости к парше, несущие в себе ген *Rvi5*.
В анализируемой коллекции маркеры AE10-375 и GE-8019 QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу яблони отмечены практически у одинакового количества сортов (маркер AE10-375 идентифицирован у 12 образцов, а маркер GE-8019 у 10). Однако о наличии устойчивости свидетельствует присутствие двух маркеров в одном генотипе. Таких образцов выявлено пять – ‘Исеть Белая’, ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’, ‘Серебряное Копытце’, ‘Благая Весть’. **Заключение.** Проведенные исследования позволили установить источники ценных признаков в сортах яблони уральской селекции. Идентифицированные генотипы являются перспективными для дальнейшего использования в селекционной работе и промышленном садоводстве.

***Ключевые слова*:** *Malus domestica, Venturia inaequalis, Erwinia amylovora, Rvi6,* QTL FBF7

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» тема № 0532-2021-0008 «Создание конкурентоспособных, высокоурожайных сортов зерновых, зернобобовых, кормовых, плодово-ягодных культур и картофеля мирового уровня на основе перспективных генетических ресурсов, устойчивых к био- и абиотическим факторам» и в рамках Государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2025-0004 «Совершенствование подходов и методов *ex situ* сохранения идентифицированного генофонда плодовых, ягодных культур, винограда и их диких родичей, разработка технологий их эффективного использования в селекции»

Для цитирования: Шамшин И.Н., Тележинский Д.Д., Шлявас А.В. Анализ генов устойчивости к парше и бактериальному ожогу у сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства с использованием молекулярных маркеров. *Биотехнология и селекция растений.* 2025;8(2):. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o2

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Шамшин И.Н., Тележинский Д.Д., Шлявас А.В., 2025

Original article
DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o2

Molecular marker analysis of genes of resistance to scab and fire blight in the apple cultivars bred at the Sverdlovsk Horticultural Breeding Station

Ivan N. Shamshin[1], Dmitry D. Telezhinskiy[2], Anna V. Shlyavas[3]

[1] Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia

[2] Ural Federal Agricultural Research Center, Ekaterinburg, Russia

[3] N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

Corresponding author: Ivan N. Shamshin, ivan_shasmhin@mail.ru

Background. Unique apple cultivars have been created at the Sverdlovsk Horticultural Breeding Station and adapted to growing in the harsh natural and climatic conditions of the Middle Urals. Sharp temperature changes and a significant amount of precipitation in summer contribute to the development of fungal and bacterial diseases. Therefore, the main direction in breeding is the creation of forms with a complex of genes for resistance to various types of diseases. To search for sources of valuable features, the use of the molecular marker method remains relevant, which shortens the analysis time and allows for selection directly on the basis of gene presence instead of the external manifestation of a trait. The aim of our work was to search for scab and fire blight resistance genes in apple cultivars bred by the Sverdlovsk Breeding Station of Horticulture using DNA markers. The study used the VfC marker of the *Rvi6* scab resistance gene, AE10-375 and GE-8019 QTL FBF7 markers of resistance to fire blight of apple trees. The results of molecular identification of the scab resistance gene were compared with those of evaluating the field resistance in the cultivars studied during the epiphytotic years. 21 apple cultivars were analyzed. **Results.** In the course of the research, the *Rvi6* gene was identified in three apple cultivars – 'Pervouralskaya' 'Aksyona' and 'Blagaya Vest'. An assessment of field resistance to scab showed that a number of cultivars were not affected. It was established that all varieties with a fragment indicating the presence of the *Rvi6* gene were not affected by scab during epiphytotic years. The cultivars 'Tavatuy', 'Rozochka', 'Danila', 'VEM Rozovyj', and 'Rodnikovaya' also showed no signs of the disease. The pedigree analysis showed that scab resistance donors carrying the *Rvi5* gene were used to create these cultivars.
In the analyzed collection, markers AE10-375 and GE-8019 QTL FBF7 of resistance to bacterial fire blight of apple trees were noted in almost the same number of cultivars (AE10-375 was identified in 12 accessions, and GE-8019 in 10). However, the presence of resistance is evidenced by the presence of two markers in one genotype. The five identified accessions are 'Iset Belaya', 'Pervouralskaya', 'Aksyona', 'Serebryanoye Kopyttse', and 'Blagaya Vest'. **Conclusions.** The performed research made it possible to establish the sources of valuable characters in apple cultivars bred in the Urals. The identified genotypes are promising for further use in breeding and industrial horticulture.

Keywords: *Malus domestica, Venturia inaequalis, Erwinia amylovora, Rvi6,* QTL FBF7

Acknowledgements: The research was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the State Assignment to the Ural Federal Agricultural Research Centre, Topic No. 0532-2021-0008 "Creation of competitive, high-yielding cultivars of cereals, grain legumes, forage, fruit and berry crops and potatoes on the basis of promising genetic resources resistant to bio- and abiotic factors", and within the framework of the State Assignment to VIR, Theme Plan Project No. FGEM-2025-0004 "Improving the approaches and methods for *ex situ* conservation of the identified genetic diversity of vegetatively propagated crops and their wild relatives, and development of technologies for their effective utilization in plant breeding"

For citation: Shamshin I.N., Telezhinskiy D.D., Shlyavas A.V. Molecular marker analysis of genes of resistance to scab and fire blight in the apple cultivars bred at the Sverdlovsk Horticultural Breeding Station. *Plant Biotechnology and Breeding.* 2025;8(2):. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o2

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Shamshin I.N., Telezhinskiy D.D., Shlyavas A.V., 2025

Введение

Одним из регионов с суровыми природно-климатическими условиями для ведения садоводства в России является Средний Урал. Основными лимитирующими факторами для плодовых культур здесь являются повреждающие зимние температуры ниже –30°C, короткий вегетационный период продолжительностью 109-119 дней и низкая сумма активных температур (1600-1800°C). Создание здесь современного сортимента яблони происходило путем насыщающих скрещиваний местных высокозимостойких форм, произошедших от яблони сибирской, или яблони ягодной *Malus baccata* (L.) Borkh., с сортами средней и южной полосы России (Telezhinskiy et al., 2020).

Начиная с XIX века садоводы-любители предпринимали попытки выращивать плодовые растения из центральных губерний Российской Империи, но только к началу 30-х годов XX века появились первые положительные результаты, а организация в 1935 году Свердловской селекционной станции садоводства положила начало научному плодоводству на Среднем Урале (Slepneva, Shlyavas, 2021).

В настоящее время на Свердловской селекционной станции садоводства создано 20 сортов яблони, рекомендованных для выращивания в Волго-Вятском регионе России, а также имеется обширный гибридный фонд (Telezhinskiy, Shlyavas, 2025). Одним из основных направлений работы уральских селекционеров является создание сортов яблони с комплексной устойчивостью к грибным и бактериальным болезням, так как резкие перепады температур и значительное количество осадков в летний период способствуют их активному развитию.

Грибные болезни являются наиболее распространенными причинами снижения урожайности в яблоневых насаждениях, одно из них – парша яблони.

Парша – вредоносное и широко распространенное заболевание яблони, вызываемое грибом *Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter. Он поражает листья, черешки, цветки, плоды, плодоножки и побеги – прирост текущего года. Споры парши имеют высокую устойчивость к низким температурам, что способствует ее распространению в регионах с холодным климатом. Повышенная влажность в период вегетации ускоряет развитие заболевания. Растения, пораженные паршой, имеют ослабленный иммунитет, значительно снижается их устойчивость к низким температурам, а качество и количество товарной продукции ухудшается (Boudichevskaia et al., 2009).

Активно ведется работа по созданию устойчивых к парше сортов яблони. У дикорастущих видов рода *Malus* Mill. идентифицирована как моногенная, так и полигенная устойчивость к возбудителю болезни. Ряд генов был интрогрессирован в культурные сорта яблони. Наиболее известным является ген *Rvi6* (*Vf*), полученный из *M. floribunda* 821. В настоящее время, известно в общей сложности 20 генов, связанных с различной степенью устойчивости к парше, в том числе: *Rvi15* (*Vr*), *Rvi2* (*Vh2*) и *Rvi4* (*Vh4*) из *Malus pumila* R12740-7a, *Rvi11* (*Vbj*), идентифицированный в генотипе A722-7 (*Malus baccata jackii* × ‘Starking’), *Rvi10* (*Va*) из сорта ‘Антоновка’ PI172623, *Rvi1* (*Vg*) из ‘Golden Delicious’ и *Rvi5* (*Vm*) из *Malus micromalus*. Другие источники, несущие гены резистентности: ‘Dülmener Rosenapfel’ (*Rvi14*), GMAL2473 (*Rvi15*), MISop 93.051 G07-098 (*Rvi16*) и ‘Антоновка’ APF22 (*Rvi17*) (Podwyszy´nska et al., 2021).

Применение современных методов генетики в селекционной работе позволяет проводить пирамидирование генов устойчивости к парше в одном генотипе. Использование молекулярных маркеров в анализе исходных форм значительно сокращает сроки получения новых высокоустойчивых генотипов. На сегодняшний день разработаны ДНК-маркеры для отдельных генов устойчивости (Boudichevskaia et al., 2004; Liebhard et al., 2003; Afunian et al., 2004; Patocchi et al., 2004; Patocchi et al., 2005; Khajuria et al., 2018).

Еще одним заболеванием, наносящим значительный ущерб отрасли садоводства, является бактериальный ожог плодовых. Возбудителем является грамотрицательная фитопатогенная энтеробактерия *Erwinia amylovora* (Burrill.) Winslow et al. В большинстве стран мира, в том числе и в России, бактериальный ожог – карантинное заболевание. Для борьбы с ним на сегодняшний день не разработано эффективных методов. В России заболевание, вызываемое *E. amylovora*, распространено в южных и центральных регионах страны. Однако, это достаточно пластичный патоген. Наиболее значительным ограничивающим фактором его распространения на территории Российской Федерации может быть высокая устойчивость произрастающих растений-хозяев (Karimova et al., 2013).

Садоводство на Среднем Урале активно развивается. На сегодняшний день яблоню в регионе выращивают как в промышленных садах, так и в частном секторе. Созданные сорта яблони адаптированы для выращивания в местных климатических условиях. Кроме того, они успешно выращиваются и в более южных регионах страны. Поэтому актуальным остается вопрос оценки устойчивости этих сортов к бактериальному ожогу (Kotov, 2019). Для идентификации генов устойчивости к данному заболеванию у яблони широко используют молекулярные маркеры. Они успешно применяются для оценки генетических коллекций и поиска источников ценного признака. К настоящему времени не выявлено отдельных генов, контролирующих устойчивость к бактериальному ожогу. Однако идентифицирован ряд QTL, связанных с данным признаком. Созданные для них молекулярные маркеры применяются для оценки сортов и гибридов яблони (Khan et al., 2007; Flachowsky et al., 2008; Baldo et al., 2010; Wöhner et al., 2014; Kost, 2016).

Цель нашей работы – провести идентификацию генов устойчивости к парше и бактериальному ожогу с использованием молекулярных маркеров у сортов яблони, соз-

данных селекционерами Свердловской селекционной станции садоводства.

Материалы и методы

Биологическим объектом исследования был 21 сорт яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства – структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦУрО РАН).

ДНК экстрагировали из молодых листьев с использованием набора Quick-DNA Plant/Seed Miniprep Kit (ZymoResearch, США) согласно протоколу производителя. Амплификацию проводили в приборе SimpliAmp производства «Applied Biosystems» (США). Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTP, 2,5 мМ $MgSO_4$, 10 пМ каждого праймера, 1 е.а. (активных единиц) Taq-полимеразы и 10 × стандартный ПЦР-буфер (Thermo Fisher Scientific, США).

Праймеры синтезированы НПК «Синтол» (Россия). Последовательности представлены в таблице 1.

Таблица 1. Последовательности пар праймеров, использованных в работе

Table 1. Sequences of primer pairs used in the study

Праймер/ Primer	Последовательность/ Sequence (5'→ 3')	Температура отжига, °C/ Annealing temperature, °C	Источник/ Reference
AE10-375	FCTAAGCGCACGTTCTCC RCTGAAGCGCATCATTTCTGATAG	55	Khan et al., 2007
GE-8019	F TTGAGACCGATTTTCGTGTG R TCTCTCCCAGAGCTTCATTGT	55	
CH-F7-Fb1	F AGCCAGATCACATGTTTTCATC R ACAACGGCCACCAGTTTATC	60	
VfC	F GGTTTCCAAAGTCCAATTCC RCGTTAGCATTTTGAGTTGAC	58	Afunian et al., 2004

После амплификации образцы разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле. В качестве маркера молекулярного веса ДНК использовали GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, США). Гели анализировали в ультрафиолетовом свете и фотографировали с использованием цифровой фотокамеры.

Степень поражения плодов изучаемых сортов яблони оценивали в годы эпифитотий парши: 2001, 2002, 2003, 2005, 2011, 2014, 2015, 2017 – на естественном инфекционном фоне. Наблюдения проводили на базе уникальной научной установки коллекции живых растений открытого грунта «Генофонд плодовых, ягодных и декоративных культур на Среднем Урале» в Екатеринбурге.

Учет поражения плодов паршой проводили согласно «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Sedov, Ogoltsova, 1999). Степень поражения каждого плода оценивали по следующим показателям в баллах:

0 – признаки поражения отсутствуют;

1 –единичные мелкие пятна парши в виде точек;

2 – немногочисленные некрупные пятна парши диаметром более 1 см, спороношение слабое или умеренное;

3 – мелкие и крупные пятна парши диаметром более 1 см, спороношение умеренное, некоторые пятна с неглубокими трещинами;

4 – пятна многочисленные, крупные, с темным налетом спороношения, с трещинами, занимающими до 10% поверхности плода;

5 – пятна многочисленные, сливающиеся, опробковевшие, глубокие растрескивания занимают более 10% поверхности плода.

Растения с поражением 0 баллов относили к высокоустойчивым, 1 балл – к устойчивым, 2 балла – к среднеустойчивым, 3 балла – к среденевосприимчивым, 4 балла – к восприимчивым, 5 баллов – к сильновосприимчивым.

Результаты

Идентификацию генов устойчивости к болезням яблони проводили с использованием ранее созданных и успешно используемых в селекции яблони маркеров.

Для поиска гена *Rvi6* применяли STS-маркер VfC. При амплификации ДНК яблони синтезируются фрагменты размером 646 пн и 484 пн. Эти фрагменты характерны как для устойчивых, так и для восприимчивых генотипов. Для иммунных форм характерно наличие фрагмента размером 286 пн (Afunian et al., 2004) (рис. 1). В качестве положительного контроля был использован сорт яблони ‘Былина’ у которого ранее был идентифицирован данный ген (Shamshin et al., 2011).

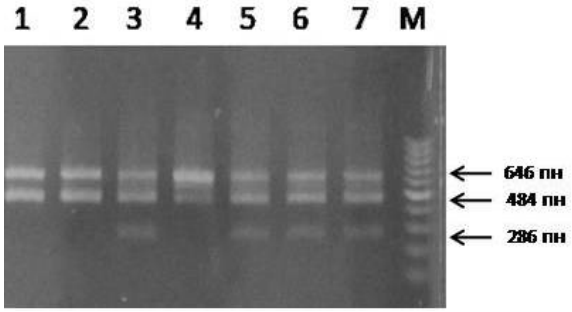

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации маркера VfC:
1 – ‘Розочка’, 2 – ‘Исеть Белая’, 3 – ‘Первоуральская’, 4 – ‘Данила’, 5 – ‘Аксёна’, 6 – ‘Благая Весть’, 7 – ‘Былина’, M – маркер молекулярного веса ДНК (100 пн)

Fig. 1. Electrophoregram of VfC marker amplification products:
1 – ‘Rozochka’, 2 – ‘Iset Belaya’, 3 – ‘Pervouralskaya’, 4 – ‘Danila’, 5 – ‘Aksyona’, 6 – ‘Blagaya Vest’, 7 – ‘Bylina’, M – 100-bp molecular weight ladder

Анализ электрофоретических спектров сортов яблони селекции Свердловской станции садоводства показал, что фрагменты 646 пн и 484 пн были идентифицированы у всех исследуемых образцов. Фрагмент размером 286 пн, указывающий на присутствие гена *Rvi6*, идентифицирован у трех сортов – ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’ и ‘Благая Весть’ (табл. 2).

При полевой оценке повреждение плодов отсутствовало у сортов ‘Розочка’, ‘Таватуй’, ‘Первоуральская’, ‘Данила’, ‘Аксёна’, ‘ВЭМ Розовый’, ‘Родниковая’ и ‘Благая Весть’. Максимальное поражение 3 балла имели сорта: ‘Свердловчанин’, ‘Краса Свердловска’, ‘Экранное’, ‘Серебряное Копытце’, ‘Исетское Позднее’ и ‘Уральское Розовое’. Остальные образцы имели повреждения в 1-2 балла (см. табл. 2).

Таблица 2. Результаты идентификации сортов с маркером устойчивости к парше и степень поражения их плодов

Table 2. The results of identification of cultivars with scab resistance markers, and the degree of their fruit damage

Сорт/ Cultivar	Размер амплифицированного фрагмента, пн/ Amplified fragment size, bp			Происхождение/ Origin	Максимальная степень поражения паршой плодов, балл/ Maximum degree of scab damage to fruits, points
	646	484	286		
‘Свердловчанин’	+	+	–	‘Янтарь’ × (‘Оранжевое’ + ‘Самоцвет’ + ‘Звездочка’)	3
‘Сокол Ясный’	+	+	–	‘Mantet’ от своб. опыления	2
‘Таватуй’	+	+	–	‘Уральский Сувенир’ × SR0523 (донор гена *Rvi5*)	0
‘Краса Свердловска’	+	+	–	Сеянец от свободного опыления крупноплодного сорта	3
‘Розочка’	+	+	–	‘Серебряное Копытце’ × ‘Орловим’ (донор гена *Rvi5*)	0
‘Исеть Белая’	+	+	–	Сеянец неизвестного происхождения	2
‘Первоуральская’	+	+	+	‘Персиянка’ × BM41497 (донор гена *Rvi6*)	0
‘Папироянтарное’	+	+	–	‘Папировка’ × ‘Янтарь’	2
‘Данила’	+	+	–	‘Уральский Сувенир’ × SR0523 (донор гена *Rvi5*)	0

Таблица 2. (Продолжение)

‘Аксёна’	+	+	+	‘Серебряное Копытце’ × 22-40-67 (донор гена *Rvi6*)	0
‘Экранное’	+	+	–	‘Янтарь’ × (‘Оранжевое’ + ‘Самоцвет’ + ‘Звездочка’)	3
‘Розоватое Зимнее’	+	+	–	‘Янтарь’ × ‘Ренет Писгуда’	1
‘ВЭМ Розовый	+	+	–	‘Уральский Сувенир’ × SR0523 (донор гена *Rvi5*)	0
‘Соковое 3’	+	+	–	‘Уральское Наливное’ × ‘Урожайное’	1
‘Горнист’	+	+	–	Сеянец от свободного опыления формы №2-8-2 (‘Коричное Полосатое’ × смесь пыльцы уральских сортов)	1
‘Родниковая’	+	+	–	‘Уральский Сувенир’ × SR0523 (донор гена *Rvi5*)	0
‘Серебряное Копытце’	+	+	–	‘Снежинка’ × ‘Радуга’	3
‘Исетское Позднее’	+	+	–	‘Щедрая’ × ‘Янтарь’	3
‘Румянка Свердловская’	+	+	–	‘Апорт’ × ‘Выдубецкая Плакучая’	1
‘Благая Весть’	+	+	+	Х-2034 (донор гена *Rvi6*) × ‘Краса Свердловска’	0
‘Уральское Розовое’	+	+	–	‘Уралец’ × ‘Розовое Превосходное’	3
‘Былина’ (К+)*	+	+	+		

*– устойчивые генотипы
К+ – положительный контроль
«+» - наличие фрагмента, «–» – отсутствие фрагмента

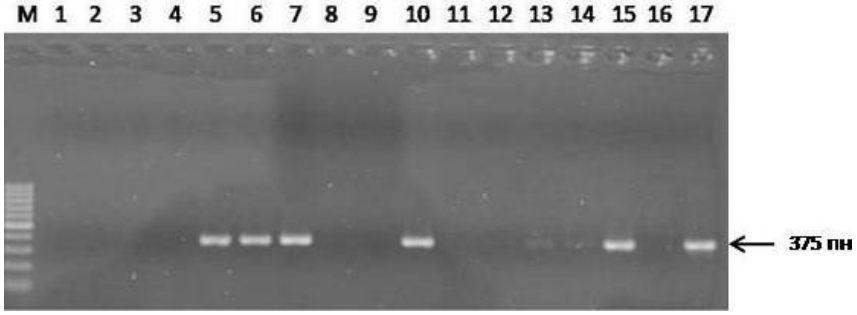

Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации маркера AE10-375:
1 – ‘Свердловчанин’, 2 – ‘Сокол Ясный’, 3 – ‘Таватуй’, 4 – ‘Краса Свердловска’, 5 – ‘Розочка’, 6 – ‘Исеть Белая, 7 – ‘Первоуральская’, 8 – ‘Папироянтарное’, 9 – ‘Данила’, 10 – ‘Аксёна’, 11 – ‘Экранное’, 12 – ‘Розоватое Зимнее’, 13 – ‘ВЭМ Розовый’, 14 – ‘Соковое 3’, 15 –‘Горнист’, 16 –‘Родниковая’, 17 – ‘Remoa’, M – маркер молекулярного веса ДНК (100 пн)

Fig. 2. Electrophoregram of AE10-375 marker amplification products:
1 – ‘Sverdlovchanin’, 2 – ‘Sokol Yasnyj’, 3 – ‘Tavatuy’, 4 – ‘Krasa Sverdlovska’, 5 –‘Rozochka’, 6 –‘Iset Belaya, 7 –‘Pervouralskaya’, 8 –‘Papiroyantarnoye’, 9 – ‘Danila’, 10 – ‘Aksyona’, 11 – ‘Ekrannoye’, 12 – ‘Rozovatoe Zimnee’, 13 – ‘VEM Rozovyj’, 14 – ‘Sokovoye 3’, 15 – ‘Gornist’, 16 – ‘Rodnikovaya’, 17 – ‘Remoa’, M – 100 bp molecular weight ladder

Для идентификации локуса FBF7 разработаны SCAR-маркеры AE10-375 и GE-8019 (Khan et al., 2007).

Для SCAR-маркера AE10-375 характерно наличие фрагмента 375 пн, а для маркера GE-8019 – фрагмента 397 пн. В качестве положительного контроля использовали сорт яблони ‘Remoa’, у которого ранее было показано наличие данных маркеров (Khan et al., 2007). Пример идентификации используемых маркеров представлен на рисунках 2 и 3.

В результате проведенного анализа маркер AE10-375 идентифицирован у 12 сортов: ‘Розочка’, ‘Исеть Белая’, ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’, ‘ВЭМ Розовый’, ‘Соковое 3’, ‘Горнист’, ‘Серебряное Копытце’, ‘Исетское Позднее’, ‘Румянка Свердловская’, ‘Благая Весть, ‘Уральское Розовое’ (табл. 3).

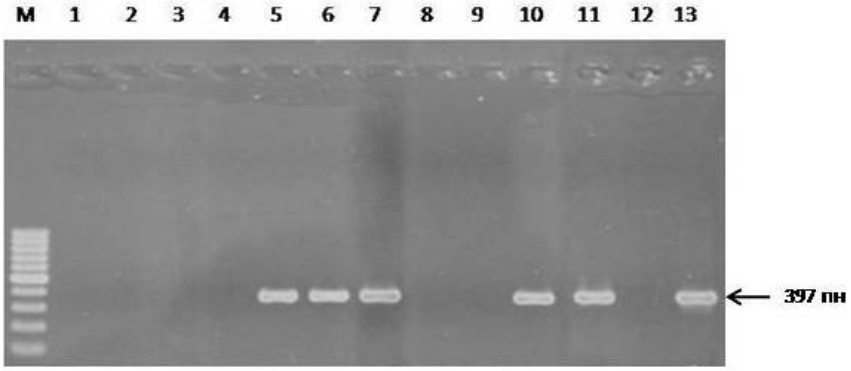

Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации маркера GE-8019:
1 – ‘Свердловчанин’, 2 – ‘Таватуй’, 3 – ‘Розочка’, 4 – ‘Данила’, 5 – ‘Сокол Ясный’, 6 – ‘Исеть Белая’, 7 – ‘Первоуральская’, 8 – ‘ВЭМ Розовый’, 9 – ‘Соковое 3’, 10 – ‘Аксёна’, 11 –‘Экранное’, 12 –‘Родниковая’, 13 – ‘Remoa’, M – маркер молекулярного веса ДНК (100 пн)

Fig. 3. Electrophoregram of GE-8019 marker amplification products:
1 – ‘Sverdlovchanin’, 2 – ‘Tavatuy’, 3 –‘Rozochka’, 4 – ‘Danila’, 5 – ‘Sokol Yasnyj’, 6 – ‘Iset Belaia, 7 – ‘Pervouralskaya’, 8 – ‘VEM Rozovyj’, 9 – ‘Sokovoye 3’, 10 – ‘Aksyona’, 11 – ‘Ekrannoye’, 12 – ‘Rodnikovaya’, 13 – ‘Remoa’, M – 100 bp molecular weight ladder

Таблица 3. Распределение маркеров QTL FBF7 у изученных сортов яблони

Table 3. Distribution of QTL FBF7 markers in the studied apple cultivars

Сорт/ Cultivar		Маркеры/ Markers	
		GE-8019 (397 пн)	AE10-375 (375 пн)
1	‘Свердловчанин’	–	–
2	‘Сокол Ясный’	+	–
3	‘Таватуй’	–	–
4	‘Краса Свердловска’	+	
5	‘Розочка’	–	+
6	‘Исеть Белая’	+	+
7	‘Первоуральская’	+	+
8	‘Папироянтарное’	+	–
9	‘Данила’	–	–
10	‘Аксёна’	+	+
11	‘Экранное’	+	–
12	‘Розоватое Зимнее’	+	–
13	‘ВЭМ Розовый’	–	+
14	‘Соковое 3’	–	+
15	‘Горнист’	–	+
16	‘Родниковая’	–	–
17	‘Серебряное Копытце’	+	+
18	‘Исетское Позднее’	–	+
19	‘Румянка Свердловская’	–	+
20	‘Благая Весть’	+	+
21	‘Уральское Розовое’	–	+
22	‘Remoa’ (К+)	+	+

* – ▭ устойчивые генотипы; К+ – положительный контроль
«+» – наличие фрагмента, «–» – отсутствие фрагмента

Сочетание двух маркеров GE-8019 и AE10-375 в одном генотипе выявлено у сортов ‘Исеть Белая’, ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’, ‘Серебряное Копытце’, ‘Благая Весть’.

Обсуждение

Маркер VfC разработан на основе анализа консервативной последовательности гена семейства *HcrVf* и является доминантным (Afunian et al., 2004). Он успешно применяется для анализа отечественных и зарубежных генетических коллекций яблони (Afunian et al., 2004; Patocchi et al., 2009; Bus, 2011; Baumgartner et al., 2015; Suprun et al., 2016; Sheikh et al., 2020; Lyzhin, Savel'eva, 2021; Dolzhikova, 2022; Suprun et al., 2023; Ulyanovskaya et al., 2024).

Данные, полученные в ходе молекулярно-генетического анализа, мы сравнили с полевой устойчивостью изучаемых сортов. Мы отметили, что поражение плодов отсутствовало как у сортов с геном *Rvi6*, так и без него.

Анализ родословной (см. табл. 2) показал, что у всех устойчивых сортов среди родительских форм присутствуют доноры устойчивости к парше. В происхождении сортов ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’ и ‘Благая Весть’ участвовали доноры гена *Rvi6*, наличие которого подтвердилось в ходе анализа ДНК. У сортов ‘Таватуй’, ‘Розочка’, ‘Данила’, ‘ВЭМ Розовый’ и ‘Родниковая’ исходными формами были доноры гена *Rvi5* – форма SR0523 и сорт ‘Орловим’, что, вероятно, и обуславливает их устойчивость.

В целом, в исследуемой коллекции большинство сортов имеет слабую степень поражения и лишь некоторые из них поражаются на уровне среднего значения используемой шкалы. Это показывает, что большая часть исследуемых сортов представляет интерес как источник устойчивости к парше и может быть использована для дальнейшей селекционной работы.

QTL FBF7 устойчивости яблони к бактериальному ожогу был определен на седьмой (7) хромосоме у сорта ‘Fiesta’. Корреляция с фенотипическим проявлением признака QTL – 34,3-46,6% (Calenge et al., 2005). Для идентификации данного локуса были созданы два SCAR-маркера. Доминантные маркеры AE10-375 и GE-8019 фланкируют участок хромосомы 7, где расположен QTL. Работа маркеров была проверена на контрастных формах яблони путем искусственного заражения. Наличие обоих маркеров в одном генотипе говорит о наличии устойчивости (Khan et al., 2007).

Данные маркеры были ранее использованы для анализа отечественных коллекций сортов и клоновых подвоев яблони (Drenova et al., 2019; Shamshin et al., 2020). Сравнение полученных результатов в аналогичных исследованиях показало, что наиболее часто встречается маркер AE10-375. Анализ 33 сортов из Франции показал, что у большинства из них присутствуют сочетания маркеров AE10-375 и GE-8019. Наличие маркера GE-8019 идентифицировано менее чем у половины образцов (Khan et al., 2007). Исследователи 31 венгерского сорта яблони установили, что у большинства сортов присутствует маркер AE10-375 и только у половины отмечен GE-8019. В этой же статье отмечено, что при скрещивании двух форм, гомозиготных по AE10-375, из 32 полученных растений маркер выявлен у 22. (Tóth et al., 2013). Маркеры AE10-375 и GE-8019 использовали для анализа 31 сорта яблони казахской селекции. Наличие двух маркеров было отмечено только у двух сортов. Маркер AE10-375 идентифицирован у 8 сортов, маркер GE-8019 у 4 (Omasheva et al., 2016).

Среди тестируемых нами сортов маркер AE10-375 идентифицирован у 12 образцов, а маркер GE-8019 у 10. Однако о наличии устойчивости свидетельствует лишь наличие двух маркеров в одном генотипе. Нами установлено пять таких сортов (см. табл. 3). Они представляют интерес в качестве источников устойчивости к бактериальному ожогу.

Мы установили, что сорта ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’ и ‘Благая Весть’ сочетают в своем генотипе все анализируемые маркеры.

Заключение

Проведенные исследования показали, что у сортов яблони, созданных на Свердловской селекционной станции садоводства, имеются гены устойчивости к парше и бактериальному ожогу. Ген *Rvi6* идентифицирован у сортов: ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’, ‘Благая Весть’. Анализ полевой устойчивости показал, что данные сорта не имеют поражения, что говорит о наличии у них устойчивости к данному заболеванию.

Наличие маркеров QTL FBF7 устойчивости к бактериальному ожогу идентифицировано у пяти сортов: ‘Исеть Белая’, ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’, ‘Серебряное Копытце’, ‘Благая Весть’.

У трех сортов из изучаемой выборки – ‘Первоуральская’, ‘Аксёна’ и ‘Благая Весть’ – выявлено сочетание всех изученных маркеров. Данные сорта яблони обладают комплексной устойчивостью и представляют интерес для садоводства и дальнейшей селекционной работы.

References/Литература

Afunian M.R., Goodwin P.H., Hunter D.M. Linkage of *Vfa4* in *Malus × domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis*. *Plant Pathology*. 2004;53(4):461-467. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2004.01047.x

Baldo J.L., Farrell R.E., Bassett C.L., Aldwinckle H.S., Malnoy M. Identification of genes differentially expressed during interaction of resistant and susceptible apple cultivars (*Malus × domestica*) with *Erwinia amylovora*. *BMC Plant Biology*. 2010;10(1):1. DOI: 10.1186/1471-2229-10-1

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 Molecular Biology Reporter*. 2015;33(5):1573-1583. DOI: 10.1007/s11105-015-0858-x

Boudichevskaia A., Flachowsky H., Dunemann F. Identification and molecular analysis of candidate genes homologous to

HcrVf genes for scab resistance in apple. *Plant breeding*. 2009;128(1):84-91. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2008.01537.x

Boudichevskaia A., Flachowsky H., Fischer C., Hanke V., Dunemann F. Development of molecular markers for *Vr1*, a scab resistance factor from R12740-7A apple. *Acta Horticulturae*. 2004;663:171-176. DOI: 10.17660/ActaHortic.2004.663.24

Bus V.G.M. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen inter-actions of *Venturia inaequalis* and *Malus*. *Annual Review of Phytopathology*. 2011;49(1):391-413. DOI: 10.1146/annurev-phyto-072910-095339

Calenge F., Drouet D., Denancé C., Van de 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. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111(1):128-135. DOI: 10.1007/s00122-005-2002-z

Dolzhikova M.A. Analysis of the apple tree (*Malus* Mill.) hybrid fund for the presence of the DNA marker of the *Vf* gene of resistance to scab (*Venturia inaequalis*). *Breeding and variety cultivation of fruit and berry crops.* 2022;9(1):47-51. [in Russian] (Должикова М.А. Анализ гибридного фонда яблони (*Malus* Mill.) на наличие ДНК-маркера гена *Vf* устойчивости к парше (*Venturia inaequalis*). *Селекция и сорторазведение садовых культур*. 2022;9(1):47-51). DOI: 10.24411/25000454_2022_0109

Drenova N.V. Fire blight in the Russian Federation and current approaches to its diagnostics. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2019;58:131-137. [in Russian] (Дренова Н.В. Ожог плодовых культур в Российской Федерации и современные подходы к его диагностике. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2019;58:131-137). DOI: 10.31676/2073-4948-2019-58-131-137

Flachowsky H., Richter K., Kim W.S., Geider K., Hanke M.V. Transgenic expression of a viral EPS-depolymerase is potentially useful to induce fire blight resistance in apple. *Annals of Applied Biology*. 2008;153(3):345-355. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2008.00264.x

Karimova E.V., Shnejder E.Yu., Smirnova I.P. Predicting the spread of the bacterial blight pathogen in fruit crops (Prognozirovanie rasprostraneniya vozbuditelya bakterialnogo ozhoga plodovykh kul'tur). *Zashchita i Karantin Rastenii = Plant Protection and Quarantine*. 2013;9:40-43. [in Russian] (Каримова Е.В., Шнейдер Е.Ю., Смирнова И.П. Прогнозирование распространения возбудителя бактериального ожога плодовых культур. *Защита и карантин растений*. 2013;9:40-43).

Khajuria Y.P., Kaul S., Wani A.A., Dhar M.K. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke. *Tree Genetics and Genomes*. 2018;14(16). DOI: 10.1007/s11295-018-1226-4

Khan M.A., Durel C.E., Duffy B., Drouet D., Kellerhals M., Gessler C., Patocchi A. 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;50(6):568-577. DOI: 10.1139/G07-033

Kost T.D. Functionality of the *FB_MR5* fire blight resistance gene of *Malus* × *robusta* 5 [dissertation]. ETH Zürich; 2016. DOI: 10.3929/ethz-a-010656323

Kotov L.A. Apple breeding in the Middle Urals. *Contemporary horticulture*. 2019;2:13-21. [in Russian] (Котов Л.А. Селекционная работа по яблоне на Среднем Урале. *Современное садоводство*. 2019;2:13-21). DOI: 10.24411/2312-6701-2019-10203

Liebhard R., Koller B., Patocchi A., Kellerhals M., Pfammatter W., Jermini M., Gessler C. Mapping quantitative field resistance against apple scab in a 'Fiesta' × 'Discovery' progeny. *Phytopathology*. 2003;*93*(4):493-501. DOI: 10.1094/PHYTO.2003.93.4.493

Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Marker-assisted screening of scab resistant (*Rvi6+Rvi4*) apple genotypes. *Fruit growing and viticulture of South Russia*. 2021;67:1-9. [in Russian] (Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Маркер-опосредованный скрининг иммунных к парше (*Rvi6+Rvi4*) генотипов яблони. *Плодоводство и виноградарство Юга России*. 2021;67:1-9). DOI: 10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9

Omasheva M.Y., Pozharskiy A.S., Maulenbay A.D., Ryabushkina N.A., Galiakparov N.N. SSR genotyping of Kazakhstani apple varieties: identification of alleles associated with resistance to highly destructive pathogens. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2016;2:46-58. DOI: 10.11134/btp.2.2016.4

Patocchi A., Bigler B., Koller B., Kellerhals M., Gessler C. Vr_2: a new apple scab resistance gene. *Theoretical and Applied Genetics*. 2004;109:1087-1092. DOI: 10.1007/s00122-004-1723-8

Patocchi A., Frei A., Frey J.E. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes. *Molecular Breeding*. 2009;24:337. DOI: 10.1007/s11032-009-9295-6

Patocchi A., Walser M., Tartarini S., Broggini G.A., 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*. 2005;48(4):630-636. DOI: 10.1139/g05-036

Podwyszy´nska M.P., Markiewicz M., Broniarek-Niemiec A., Matysiak B., Marasek-Ciolakowska A. Apple autotetraploids with enhanced resistance to apple scab (*Venturia inaequalis*) due to genome duplication-phenotypic and genetic evaluation. *International Journal of Molecular Sciences.* 2021;22(2):527. DOI: 10.3390/ijms22020527

Sedov E.N., Ogoltsova T.P. (eds) Program and methodology for studying cultivars of fruit, berry and nut crops (Programma i metodika sortoizucheniya plodovykh, yagodnykh i orekhoplodnykh kul'tur). Orel: VNIISPK; 1999. [in Russian] (Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур/ под общ. ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. Орел: ВНИИСПК; 1999).

Shamshin I.N., Maslova M.V., Drenova N.V., Dubrovsky M.L., Parusova O.V. Assessment of fire blight resistance in apple clonal rootstocks using molecular markers. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2020;181(4):185-191. [in Russian] (Шамшин И.Н., Маслова М.В., Дренова Н.В., Дубровский М.Л., Парусова О.В. Оценка устойчивости клоновых подвоев яблони к бактериальному ожогу с использованием молекулярных маркеров. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(4):185-191). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-4-185-191

Shamshin I.N., Savel'ev N.I., Kudryavtsev A.M. Application of molecular markers for identification of apple genotypes with scab resistance gene (Primeneniye molekulyarnykh markerov dlya identifikatsii genotipov yabloni s genom ustoychivosti k parshe). *Pomiculture and small fruits culture in Russia*. 2011;26:126-129. [in Russian] (Шамшин И.Н., Савельев Н.И., Кудрявцев А.М. Применение молекулярных маркеров для идентификации генотипов яблони с геном устойчивости к парше. *Плодоводство и ягодоводство России*. 2011;26:126-129).

Sheikh M.A., Mushtaq K., Mir J.I., Amin M., Nabi S.U. Introgression of scab resistance gene *Vf* (*Rvi6*) in commercially grown susceptible cultivar Fuji Azitec of apple (*Malus domestica*) using marker assisted selection. *Research Journal of Biotechnology*. 2020;15(9):50-56.

Slepneva T.N., Shlyavas A.V. Porfiry Afanasyevich Dibrova: at the origins of scientific pomiculture in the Urals. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2021;182(2):163-172. [in Russian] (Слепнева Т.Н., Шлявас А.В. Порфирий Афанасьевич Диброва – у истоков научного плодоводства Урала. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021;182(2):163-172). DOI: 10.30901/2227-8834-2021-2-163-172

Suprun I.I., Egorov E.A., Nasonov A.I., Lobodina E.V., Tokmakov S.V., Stepanov I.V. Marker-assisted selection in the development of advanced apple-tree forms and donors combining scab resistance with increased fruit storability. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2023;184(3):135-145. [in Russian] (Супрун И.И., Егоров Е.А., Насонов А.И., Лободина Е.В., Токмаков С.В., Степанов И.В. Маркер-опосредованный отбор в создании селекционных образцов и комплексных доноров яблони с устойчивостью к парше и повышенным потенциалом лежкоспособности плодов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023;184(3):135-145). DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-135-145

Suprun I.I., Tokmakov S.V., Lobodina E.V. Assessment of prospects for the improvement of the VfC1 DNA marker for the *Vf*

gene of scab resistance in apple (Otsenka perspektivnosti usovershenstvovaniya DNK-markera VfC1 gena ustoichivosti yabloni k parshe *Vf*). *Nauchnyie trudy Severo-Kavkazskogo federalnogo nauchnogo tsentra sadovodstva, vinogradarstva, vinodeliya = Scientific works of the North-Caucasian Scientific Center of Horticulture, Viticulture and Wine-making*. 2016;9:47-51. [in Russian] (Супрун И.И., Токмаков С.В., Лободина Е.В. Оценка перспективности усовершенствования ДНК-маркера VfC1 гена устойчивости яблони к парше *Vf*. *Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия*. 2016;9:47-51).

Telezhinskiy D.D., Shlyavas A.V. Morphobiological features and agronomic advantages of the new apple cultivar 'Rozochka'. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2025;26(1):82-89. [in Russian] (Тележинский Д.Д., Шлявас А.В. Морфобиологические особенности и агрономические достоинства нового сорта яблони Розочка. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2025;26(1):82-89). DOI: 10.30766/2072-9081.2025.26.1.82-89

Telezhinskiy D.D., Kotov L.A., Makarenko S.A., Tarasova G.N. Sverdlovchanin: a new apple cultivar for the Middle Urals. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding.* 2020;181(1):93-96. [in Russian] (Тележинский Д.Д., Котов Л.А., Макаренко С.А., Тарасова Г.Н. Свердловчанин – новый сорт яблони для Среднего Урала. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2020;181(1):93-96). DOI: 10.30901/2227-8834-2020-1-93-96

Tóth M., Ficzek G, Király I., Honty K., Hevesi M. Evaluation of old Carpathian apple cultivars as genetic resources of resistance to fire blight (*Erwinia amylovora*). *Trees*. 2013;27:597-605. DOI: 10.1007/s00468-012-0814-4

Ulyanovskaya E.V., Chernutskaya E.A., Bogdanovich T.V., Stepanov I.V. Marker selection for genes *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* promising for breeding of apple gene pool samples. *Agrarian Scientific Journal*. 2024;3:71-76. [in Russian] (Ульяновская Е.В., Чернуцкая Е.А., Богданович Т.В., Степанов И.В. Маркерный отбор по генам *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1*, перспективным для селекции образцов генофонда яблони. *Аграрный научный журнал.* 2024;3:71-76). DOI: 10.28983/asj.y2024i3pp71-76

Wöhner T.W., Flachowsky H., Richter K., Garcia-Libreros T., Trognitz F., Hanke M.- V., Peil A. QTL mapping of fire blight resistance in *Malus* × *robusta* 5 after inoculation with different strains of *Erwinia amylovora*. *Molecular breeding*. 2014;34(1):217-230. DOI: 10.1007/s11032-014-0031-5

Информация об авторах

Иван Николаевич Шамшин, кандидат биологических наук, заведующий, лаборатория молекулярно-генетического анализа плодовых растений, Мичуринский государственный аграрный университет, 393760 Россия, Тамбовская область, г. Мичуринск, ул. Интернациональная, 101, ivan_shamshin@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4464-1876

Дмитрий Дмитриевич Тележинский, старший научный сотрудник, Свердловская селекционная станция садоводства – структурное подразделение Уральского федерального аграрного научно-исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, 620142 Россия, Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, ddt77@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-4783-2029

Анна Владимировна Шлявас, младший научный сотрудник, отдел генетических ресурсов плодовых культур, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44, ann2668@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-8009-6780

Information about the authors

Ivan N. Shamshin, Cand. Sci. (Biology), Head of the Laboratory, Laboratory of Molecular Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, 101, Internatsionalnaya Street, Michurinsk, Tambov Region, 393760 Russia, ivan_shamshin@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4464-1876

Dmitry D. Telezhinskiy, Senior Researcher, Sverdlovsk Horticultural Breeding Station, a structural subdivision of the Ural Federal Agricultural Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a, Belinsky Street, Yekaterinburg, 620142 Russia, ddt77@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-4783-2029

Anna V. Shlyavas, Junior Researcher, Department of Fruit Crop Genetic Resources, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), 42, 44, Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg, 190000 Russia, ann2668@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-8009-6780

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.
Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.
Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 23.04.2025; одобрена после рецензирования 04.06.2025; принята к публикации 23.06.2025.
The article was submitted on 23.04.2025; approved after reviewing on 04.06.2025; accepted for publication on 23.06.2025.