

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕТОДЫ В СЕЛЕКЦИИ ЯБЛОНИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К КРАСНОГАЛЛОВОЙ ЯБЛОННОЙ ТЛЕ

О.Ю. УРБАНОВИЧ¹, З.А. КОЗЛОВСКАЯ², А.А. ХАЦКЕВИЧ¹, Н.А. КАРТЕЛЬ¹

Красногалловая, или серая, яблонная тля (*Dysaphis devecta* Walk) наносит значительный урон урожаю яблони (*Malus × domestica* Borkh.). Тля повреждает как молодые, так и взрослые деревья. Она живет колониями на коре, листьях и побегах, питаясь соком яблони. Молекулярные методы позволяют идентифицировать гены устойчивости к насекомым-вредителям и целенаправленно вводить их в создаваемые сорта. В представленном исследовании технология молекулярных маркеров (ПЦР с праймерами SdSSR) была использована для выявления *Sd*-локуса устойчивости к красногалловой яблонной тле в коллекции культивируемых и перспективных для селекции форм яблони, состоящей из 132 сортов и гибридов. *Sd*-локус устойчивости был идентифицирован в геноме у 31 сорта из разных стран. Локус представлен как у старых сортов, известных еще в XIX веке (Белый налив, Папировка, Пепин литовский, Чулановка, Cox's Orange Pippin), так и у сортов современной селекции (Белорусский синап, Белорусское малиновое, Слава победителям, Чаравница). Технология молекулярных маркеров использована при создании перспективных гибридных сеянцев яблони, устойчивых к тле.

Ключевые слова: яблоня, красногалловая яблонная тля, устойчивость, молекулярные маркеры.

Яблоня (*Malus × domestica* Borkh.) — важнейшая плодовая культура в странах с умеренным климатом. Значительный урон ее урожаю наносит красногалловая, или серая, яблонная тля (*Dysaphis devecta* Walk). Ареал насекомого достаточно широк. Существуют мигрирующие и немигрирующие формы тли. Немигрирующая форма более вредоносна.

Тля повреждает как молодые, так и взрослые деревья. Она живет колониями на коре, листьях и побегах, питаясь соком яблони. Листья пораженных деревьев искривляются, на них образуются видимые красные галлы (1). При значительной степени повреждения побеги могут засыхать. В периоды активного размножения тля повреждает и плоды, на которых образуются красные пятна. Кроме того, тля переносит вирусы, а на пораженных участках часто селятся бактерии и грибы, вызывающие болезни. Больные растения не могут реализовать потенциал урожайности и встречают зимний период ослабленными.

Основным способом борьбы с тлей, как и с другими насекомыми-вредителями, служит обработка промышленных садов инсектицидами. Несмотря на эффективность, она имеет несколько существенных недостатков: приводит к загрязнению окружающей среды, требует значительных затрат труда и материальных средств.

В настоящее время многие страны сокращают применение инсектицидов. На решение этой задачи направлена, в частности, международная программа IPM (Integrated Pest Management), предусматривающая мониторинг и использование естественных врагов насекомых-вредителей в промышленных садах (2). В СССР еще Т.Т. Безденко в 1936 году использовал трихограмму против яблонной плодожорки (3). Широкие исследования по биологической защите растений, в том числе разработка отечественных микробиологических препаратов, проводятся в белорусском Институте защиты растений с 1971 года. Созданы новые биопрепараты и технологии их применения против паутинного клеща, тепличной белокрылки, огуречного комарика, колорадского жука и др. (4). Экологические методы борьбы с насекомыми-вредителями признаны перспективными, они интенсивно развиваются, но их эффективность может быть

повышена (5-7).

К экологически безопасным можно отнести методы, которые направлены на создание сортов, обладающих естественной устойчивостью к насекомым-вредителям. Первые попытки вывести такие сорта предприняты в 1782 году. Был описан сорт пшеницы, устойчивый к гессенской мухе. Сейчас известно не менее 26 генов, обеспечивающих устойчивость пшеницы к 13 биотипам этого насекомого и служащих основой в селекции коммерческих сортов (8, 9). Работы в этом направлении поддерживаются национальными и международными центрами, а также частными селекционными компаниями. Так, в IRRI (International Rice Research Institute, Филиппины) были созданы сорта риса, устойчивые к *Nilaparvata lugens*, *Nephrotetix cincticeps*, *Orseolia oryzae* (10).

В геноме яблони в процессе эволюции сформировались механизмы, защищающие ее на протяжении многих веков возделывания. Выделены и привлекаются в селекцию источники устойчивости к зеленой яблонной тле, красному плодовому клещу, плодожорке (11-13), однако иммунных сортов пока не создано.

Устойчивость к красногалловой яблонной тле впервые была описана G.H.L. Dicker (14). Он заметил, что сорт Cox's Orang Pippin не страдает от атак насекомого. F.H. Alston и J.B. Briggs показали, что устойчивость этого сорта, а также сортов James Grieve, Northern Spy, Ashmead's Kernel контролируется одним геном или локусом (15). Были выделены биотипы тли и обозначены гены, определяющие устойчивость к ним (16). Ген устойчивости к биотипам 1 и 2, выделенный у растений сорта Cox's Orang Pippin, обозначен символом *Sd1*, а обнаруженный у яблони сорта Northern Spy и обеспечивающий устойчивость только к биотипу 1, — как *Sd2*.

С помощью молекулярных методов можно выявлять неизвестные ранее источники резистентности, идентифицировать гены устойчивости к насекомым-вредителям, целенаправленно вводить эти гены в создаваемые сорта, на ранних этапах селекционного процесса обнаруживать искомый признак задолго до его фенотипического проявления.

Целью настоящей работы было определение локуса устойчивости к красногалловой яблонной тле *Sd* в коллекции культивируемых и перспективных для селекции сортов яблони, а также выявление устойчивых генотипов среди гибридных сеянцев.

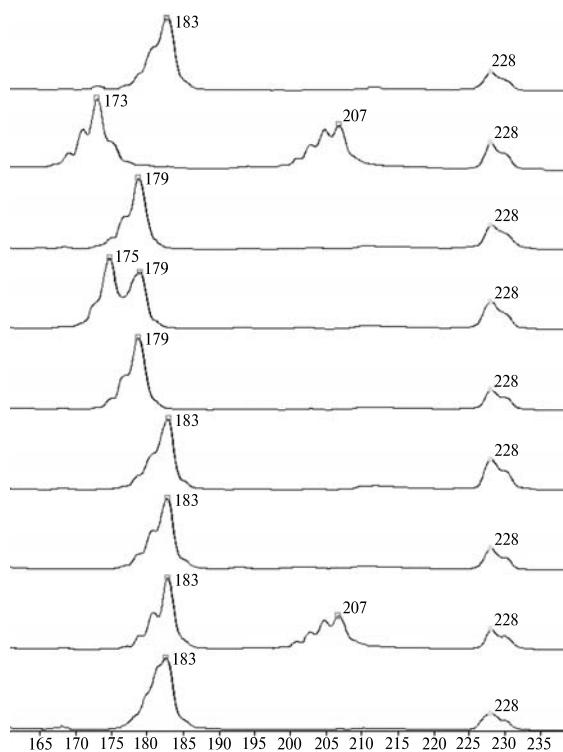
Методика. Объектом служили сорта и гибриды яблони, созданные в Беларуси, России, Украине, Бельгии, Великобритании, Германии, Казахстане, Канаде, Литве, Польше, Нидерландах, США, Чехии, Франции, Швеции, Эстонии. Рабочую коллекцию представляли 132 образца, в том числе 38 сортов, включенных в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь. Кроме того, изучили 287 гибридных сеянцев, полученных в 1999-2007 годах от скрещивания родителей, один из которых содержал *Sd*-локус. Коллекционные и селекционные образцы были отобраны в саду РУП «Институт плодоводства» (Республика Беларусь, Минский р-н).

Для получения препаратов ДНК из листового материала яблони использовали Genomic DNA Purification Kit («Thermo Fisher Scientific, Inc.», США). Выделение проводили согласно рекомендованному протоколу. После очистки и разведения до концентрации 20 мкг/мл препараты ДНК амплифицировали с помощью пары праймеров *SdSSR-F/SdSSR-R*, сцепленных с геном устойчивости к красногалловой яблонной тле (17).

Реакционная смесь для ПЦР объемом 20 мкл содержала 40 нг

ДНК, Трис-HCl (75 мМ, рН 8,8 при 25 °С), (NH₄)₂SO₄ (20 мМ), Твин 20 (0,01 %), dNTP (0,2 мМ), 200 мКМ каждого праймера, 1 ед. Tag-полимеразы. Реакцию проводили в следующем режиме: денатурация 4 мин при 94 °С; 40 циклов — денатурация 30 с при 94 °С, отжиг праймеров 1 мин при 60 °С, элонгация 2 мин при 72 °С; финальная элонгация 8 мин при 72 °С. Использовали амплификатор MyCycler («Bio-Rad», США).

Фрагменты амплификации с праймером SdSSR разделяли методом электрофореза в 6 % денатурирующем акриламидном геле в трис-богартовом буфере на секвенаторе ALFexpress II («Amersham Biosciences, Inc.», США) в течение 150 мин при следующих условиях: 450 В, 50 мА, 40 Вт, температура 55 °С, время лазерного сканирования 0,5 с. Размеры фрагментов в парах нуклеотидов вычисляли с использованием пакета программ Fragment Analyser 1.02 («Amersham Biosciences, Inc.», США) при сравнении с внутренними стандартами с известной молекулярной массой.



Результаты лазерного сканирования продуктов амплификации ДНК с праймером SdSSR, разделенных в акриламидном геле, у изученных сортов яблони: 1 — Память Вавилова, 2 — Память Исаева, 3 — Память Коваленко, 4 — Память Пашкевича, 5 — Память Сикоры, 6 — Память Сюбаровой, 7 — Папировка, 8 — Пепин литовский, 9 — Пепин литовский улучшенный. Цифры над пиками указывают длину фрагментов (п.н.), размер стандарта молекулярной массы 228 п.н., длина маркерного аллеля 183 п.н.

красногалловой яблонной тле был идентифицирован в геноме у 31 сорта и гибрида яблони (табл. 1). Локус представлен как у старых сортов, известных еще в XIX веке, — Белый налив, Папировка, Пепин литовский, Чулановка, Cox's Orange Pippin, так и у сортов современной селекции.

1. Распространение аллеля, маркирующего Sd-локус устойчивости к красногал-

Результаты. Точный размер аллелей микросателлитных последовательностей сложно определить методом электрофореза (18, 19). Часто наблюдается разница в расчетах в 1-4 нуклеотида. Результат оценки зависит от оборудования и реагентов (20). Мы проводили расчет длины аллелей как на основании внутренних стандартов с известной молекулярной массой, так и относительно контрольных образцов. Контролем служили два сорта — Discovery и Fiesta. Первый выбран как стандарт, поскольку включен во многие генетические исследования и был одним из родителей при создании картирующих популяций (18, 19, 21), второй содержит ген *Sd1* и, соответственно, несет маркерный аллель (17). Выбор стандарта важен, поскольку маркер SdSSR высокополиморфный. В коллекции из 132 сортов яблони нами было выявлено 17 аллелей длиной от 159 до 291 п.н. Аллель, сцепленный с *Sd*-локусом, имел размер 183 п.н. (рис.).

С помощью указанного маркера локус устойчивости к

**ловой яблонной тле (*Dysaphis devecta* Walk), среди сортов и гибридов яблони
(*Malus × domestica* Borkh.)**

Образцы, содержащие <i>Sd</i> -локус	Образцы, не содержащие <i>Sd</i> -локус
Белорусский синап, Белорусское летнее, Белорусское малиновое, Белый налив, Кандиль орловский, Медуница, Мечта, Минкар, Память Вавилова, Память Сибаровой, Папировка, Пепин литовский, Пепинка золотистая, Скала, Слава победителям, Чаравница, Чулановка, Юбияр, Almata, Alkmene, Fiesta, Hibernal, Jonafree, Jupiter, Kent, Pinova, Reanda, Reka, Rewena, Topaz	Алеся, Амулет, Антей, Антоновка обыкновенная, Ауксис, Афродита, Бабушкино, Банановое, Белорусское сладкое, Болотовское, Боровинка, Веньяминовское, Вербное, Весыльна, Ветеран, Дарунак, Долго, Едера, Елена, Заря Алатау, Заславское, Имант, Имрус, Коваленковское, Коробовка крупноплодная, Коштеля, Лошицкое, Лучезарное, Минское, Надзейны, Народное, Несравненное, Новинка осени, Новое сладкое, Орловим, Орловское полесье, Осеннее полосатое, Осмоловка, Память Исаева, Память Коваленко, Память Пашкевича, Память Сикоры, Первинка, Перлына Киева, Поспех, Ребристое, Свежесть, Серузл, Синап орловский, Солнышко, Старт, Стойкое, Строевское, Сябрьна, Телисааре, Утро, Цыганочка, Черное дерево, Чистотел, Щедрое, 84-50/9, 84-39/58, 84-50/9, <i>M. siboldii</i> × Спартан 25/170, BM41497, Discovery, Elstar, Empire, Florina, Freedom, Golden Delicious, Grafenstein, Hislop, Idared, Jay Darling, Jonagold de Costa, KBM F2, Lawfam, Lawfam (сейнец), McIntosh, Melba, Nora, Otava, R12740-7A, Red Boskoop, Red silver, Redfree, Relinda, Retina, Sawa, SR0523, Wealthy, Wijcik, Witos, X1924, K:1210, K:1343, K:1430, COOP-10, <i>M. sargentii</i> × Ранет Симиренко

Маркер SdSSR был разработан для идентификации гена *Sd1* (17). Как показало исследование популяции, полученной от скрещивания сортов Prima и Fiesta, с использованием RFLP- и RAPD-маркеров (соответственно restriction fragment length polymorphism и random amplified polymorphic DNA), этот ген расположен на 7-й хромосоме (22). Последующее картирование региона, содержащего *Sd1*-локус, с помощью AFLP-маркеров (amplified fragment length polymorphism) подтвердило расположение гена (17). Он находится в пределах 1,3 см между фланкирующими его маркерами SdSSR и 2B12a. Чтобы получить более детальную информацию об этой области генома яблони, были отобраны ВАС клоны геномной ДНК *Malus* (23). Молекулярные маркеры, ограничивающие ген *Sd1*, также оказались сцеплены с геном *Sd2* (17, 24). Результаты, полученные при картировании этой области, указывают на то, что ген *Sd1*, вероятно, аллелен гену *Sd2*.

Таким образом, сцепленный с локусом маркер SdSSR позволяет идентифицировать оба гена. Чтобы оценить, какой ген несет отдельный сорт, необходимо располагать дополнительной информацией. В некоторых случаях целесообразно использовать сопоставление молекулярных данных и родословной сортов, что позволит проследить наследование локуса от родителей, генотип которых известен, к потомкам. В частности, старый английский сорт Cox's Orange Pippin, известный с 1825 года, содержит ген *Sd1* (16). Его потомки — сорта Fiesta, Kent, Alkmene, Jupiter, Чаравница унаследовали этот ген. Применительно к старорусским сортам и сортам российской, украинской, белорусской селекции, для которых отсутствует информация о генах устойчивости к красногалловой яблонной тле, уместнее говорить о наличии *Sd*-локуса. В частности, сорт Пепин литовский передал *Sd*-локус сортам Пепин литовский улучшенный, Пепинка золотистая, Белорусский синап, полученным на его основе. От сорта Белорусский синап локус был перенесен в сорт Память Сибаровой. Сорта селекции Беларуси, Украины и России Белорусское летнее, Слава победителям, Мечта унаследовали локус от сорта Папировка.

Сорта, содержащие *Sd*-локус, использовали как доноры устойчивости в скрещивании при создании селекционных образцов. Устойчивые к красногалловой яблонной тле сорта Чулановка, Чаравница, Pinova, содержащие *Sd*-локус, были вовлечены в различные комбинации скрещиваний при получении перспективных сеянцев яблони. Было получено 294 сеянца от 16 гибридных семей. У них взяли листовой материал, который

использовали для молекулярного анализа на присутствие *Sd*-локуса. Было выявлено 142 образца, содержащих маркерный аллель *Sd*-локуса, что составляло 48,3 % от общего числа сеянцев, отобранных для анализа (табл. 2). Образцы с *Sd*-локусом отмечены как перспективные для селекции на устойчивость к красногалловой яблонной тле.

2. Результаты тестирования гибридных сеянцев яблони (*Malus × domestica* Borkh.), полученных в разных комбинациях скрещиваний, на присутствие *Sd*-локуса устойчивости к красногалловой яблонной тле (*Dysaphis devecta* Walk)

Комбинация скрещивания	Год скре- щивания	Число анали- зируемых об- разцов, шт.	Содержат маркер SdSSR		Не содержат маркер SdSSR	
			всего	%	всего	%
Чулановка (свободное опыление)	1999	16	6	37,5	10	62,5
84-47/33 × Чулановка	1999	7	6	85,7	1	14,3
Чаравница (свободное опыление)	1999	4	1	25,0	3	75,0
<i>M. sieboldii</i> 25/184 × Чулановка	1999	13	6	46,2	7	53,8
Чаравница × <i>M. sieboldii</i> 35/58	1999	2	1	50,0	1	50,0
Чаравница × (Лобо × Прима)	2001	4	2	50,0	2	50,0
Чаравница × (Лобо × Прима)	2001	46	20	43,5	26	56,5
(Белорусское малиновое + Чарав- ница) (свободное опыление)	2001	13	1	7,8	12	92,3
ПБ-4 Чаравница × Имрус	2002	16	8	50,0	8	50,0
Чаравница (свободное опыление)	2002	13	10	76,9	3	23,1
Чаравница × Имрус	2002	12	3	25,0	9	75,0
Чаравница (свободное опыление)	2003	8	6	75,0	2	25,0
Чаравница (свободное опыление)	2004	36	19	52,8	17	47,2
Чулановка (свободное опыление)	2006	5	2	40,0	3	60,0
Чаравница (свободное опыление)	2006	5	3	60,0	2	40,0
Пинова × 39/105 (ВМ41497 × Антей)	2006	94	48	5,1	46	48,9
Всего		294	142	48,3	152	51,7

Гены, определяющие устойчивость к насекомым, могут достаточно надежно защищать яблоню от поражения. Наблюдения показали, что чувствительность к насекомым-вредителям у яблони связана с сортовыми особенностями (25, 26). Отмечено, что степень инфицирования деревьев видаами *D. plantaginea* и *D. devecta* прямо зависит от генотипа растения (27), тогда как для зеленой яблонной тли (*Aphis pomi*) подобная зависимость выражена слабее. Создание молекулярных маркеров для генов, определяющих влияние генотипа на устойчивость, позволяет перевести селекционный процесс на качественно новый уровень.

Кроме генов устойчивости к красногалловой яблонной тле, в геноме яблони идентифицированы и маркированы гены устойчивости к кровяной яблонной тле (*Eriosoma lanigerum*), что открывает перспективы для создания сортов, устойчивых к некоторым насекомым-вредителям (28).

Итак, *Sd*-локус, определяющий устойчивость к красногалловой яблонной тле, достаточно широко распространен в геноме как старых сортов яблони (Белый налив, Папировка, Пепин литовский, Чулановка, Cox's Orange Pippin), так и сортов современной селекции (Белорусский синап, Белорусское малиновое, Слава победителям, Чаравница). В общей сложности этот локус был идентифицирован у 31 сорта из разных стран. Технология молекулярных маркеров позволяет быстро и достаточно надежно идентифицировать *Sd*-локус в геноме, выявить генотипы, содержащие гены устойчивости, проследить наследование нужного признака у потомков и исключить из селекционного процесса образцы, не представляющие интерес, минуя длительную стадию оценки по фенотипу.

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларусь,
220072 Республика Беларусь, г. Минск, ул. Академическая, 27,
e-mail: O.Urbanchich@igc.bas-net.by;

²Институт плодоводства,
223013 Республика Беларусь, Минская обл., Минский р-н,

Поступила в редакцию
22 апреля 2009 года

MOLECULAR METHODS IN APPLE BREEDING FOR RESISTANCE TO ROSY LEAF-CURLING APHID

O.Yu. Urbanovich¹, Z.A. Kozlovskaya², A.A. Khatskevich¹, N.A. Kartel¹

¹Institute of Genetic and Cytology, National Academy of Science of Belarus, 27, ul. Akademicheskaya, Minsk, 220072 Republic of Belarus, e-mail O.Urbanovich@igc.bas-net.by;

²Institute of Pomiculture, 2, ul. Kovaleva, pos. Samokhvalovich, Minsk Region, 223013 Republic of Belarus, e-mail zoya-kozlovskaya@tut.by

Received April 22, 2009

doi: 10.15389/agrobiology.2013.5.54eng

Abstract

The rosy leaf-curling aphid (*Dysaphis devecta* Walk) is a widespread pest insect on apple-trees (*Malus × domestica* Borkh.). The aphid damages both young trees and old trees. The aphid forms the colonies on the rind, leaves and shoots and it is nourished by apple tree juice. Some culti-vars exhibit resistance to this insect owing to appropriate genes in genome. The current methods permit to identify the genes of such resistance and to transfer of them purposefully to created varie-ties. In presented article the molecular marker technology was used for detecting resistance *Sd*-locus to rosy leaf-curling aphid, basing on PCR with SdSSR-F/SdSSR-R primers. The Discovery и Fiesta cultivars were used as a control, the first one as a parent to create the plant mapping populations, and the second one as a carrier of *Sd1* gene and the corresponding marker. The allele linked with *Sd*-locus has a size of 183 bp. The collection of 132 apple cultivars and hybrids was tested for *Sd*-locus, and the *Sd*-locus identified in genomes of 31 apple accessions from different countries. *Sd*-locus is presented in ancient cultivars, known as long ago as XIX century (Belyi Naliv, Papirovka, Pepin Litovskii, Chulanovka, Cox's Orange Pippin) and cultivars of modern breeding (Sinap Belo-russkii, Belorusskoe Malinovoe, Slava Pobeditelyam, Charavnitsa). The molecular marker technology was applied for developing promising apple hybrid seedling resistant to rosy leaf-curling aphid.

Keywords: apple, rosy leaf-curling aphid, resistance, molecular marker.

R E F E R E N C E S

1. Gratwick M. *Crop pests in the UK. Collected edition of MAFF leaflets, 1st. ed.* London, 1992.
2. Zehnder G., Gurr G., Kuhne S., Walde M.R., Wyss E. Arthropod pest management in organic crops. *Annu. Rev. Entomol.*, 2007, 52: 57-80.
3. Kolyadko N.N., Bud'ko L.I. *Materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu T.T. Bezdenko «Aktual'nye problemy biologicheskoi zashchity rastenii»* [Proc. Conf. on Actual Problems in Plant Protection: Biocontrol (dedicated to the 100th Anniversary of T.T. Bezdenko)]. Minsk, 1998: 15-17.
4. Prishchepa L.I. *Zemlyarostvya i Akhova Raslin*, 2006, 47: 38-40.
5. Minarro M., Hemptinne J.L., Dapena E. Colonization of apple orchards by predators of *Dysaphis plantaginea*: sequential arrival, response to prey abundance and consequences for biological control. *BioControl*, 2005, 50: 403-414.
6. Omkar J., Pervez A. Ecology of two-spotted ladybird (*Adalia bipunctata*): a review. *J. Appl. Entomol.*, 2005, 129: 465-474.
7. Simon S., Lauri P.E., Brun L., Defrance H., Sauphanor B. Does manipulation of fruit-tree architecture affect the development of pests and pathogens? A case study in an organic apple orchard. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.*, 2006, 81: 765-773.
8. Dweikat I., Ohm H., Mackenzie S., Pettersson F., Cambron S., Ratcliffe R. Association of a DNA marker with Hessian fly resistance gene *H9* in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, 89: 964-968.
9. Dweikat I., Ohm H., Pettersson F., Cambron S. Identification of RAPD markers for 11 Hessian fly resistance genes in wheat. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 94: 419-423.
10. The development of insect-resistant plants through biotechnology (Sutrisno). *Buletin AgroBio*, 2001, 4: 9-12.
11. Savel'ev N.I. *Geneticheskie osnovy selektsii yabloni* [Genetic Basis for Apple Breeding]. Michurinsk, 1998.
12. White A.G., Bus V.G. Breeding commercial apple cultivars in New Zealand with resistances to pests and diseases. *Acta Horticulturae*, 1999, 484: 157-161.
13. Bus V., Bradley S., Hofstee M., Alspach P., Brewer L., Luby J. Increasing genetic diversity in apple breeding to improve the durability of pest and disease resistance. *Acta Horticulturae*, 2000, 538: 185-190.
14. Dicker G.H.L. The apple, pear and quince aphids. *Rep. East Malling Res. Stn. For.*, 1954, 1953:

213-217.

15. Alston F.H., Briggs J.B. Resistance to *Sappaphis detecta* (Walker) in apple. *Euphytica*, 1968, 17: 468-472.
16. Alston F.H., Briggs J.B. Resistance genes in apple and biotypes of *Sappaphis detecta*. *Ann. Appl. Biol.*, 1977, 87: 75-81.
17. Cevik V., King G.J. High-resolution genetic analysis of the *Sd-1* aphid resistance locus in *Malus* spp. *Theor. Appl. Genet.*, 2002, 105: 346-354.
18. Liebhard R., Gianfranceschi L., Koller B., Ryder C.D., Tarchini R., Van de Weg E., Gessler C. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Theor. Appl. Genet.*, 2002, 10: 217-241.
19. 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 × domestica* Borkh.) genome. *Tree Genet. Genomes*, 2006, 2: 202-224.
20. This P., Jung A., Boccacci P., Borrego J., Botta R., Costantini I., Crespan M., Dangl G.S., Eisenheld C., Ferreira-Monteiro F., Grando S., Ibanez J., Lacombe T., Laucou V., Magalhaes R., Meredith C.P., Milani N., Peterlunger E., Regner F., Zulini L., Maul E. Development of a standard set of microsatellite reference alleles for identification of grape cultivars. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, 109: 1448-1458.
21. Urbanovich O.Yu., Kozlovskaya Z.A., Kartel' N.A. *Doklady NAN Belarusi*, 2008, 52: 93-99.
22. Roche P., Alston F.H., Maliepaard C., Evans K.M., Vrielink R., Dunemann F., Markussen T., Tartarini S., Brown L.M., Ryder C., King G.J. RFLP and RAPD markers linked to the rosy leaf curling aphid resistance gene (*Sd1*) in apple. *Theor. Appl. Genet.*, 1997, 94: 528-533.
23. Cevik V., King G.J. Resolving the aphid resistance locus *Sd-1* on a BAC contig within a sub-telomeric region of *Malus* linkage group 7. *Genome*, 2002, 45: 939-945.
24. Cevik V., King G.J. Molecular genetic analysis of the *Sd1* aphid resistance locus in *Malus*. *Acta Horticulturae*, 2000, 538: 553-559.
25. Andreev R., Kutinkova H. Resistance to aphids and scale insects in nine apple cultivars. *J. Fruit Ornam. Plant Res.*, 2004, 12: 215-221.
26. Qubbaj T., Reineke A., Zebitz C.P.W. Molecular interactions between rosy apple aphids (*Dysaphis plantaginea*) and resistant and susceptible cultivars of its primary host *Malus domestica*. *Entomol. Exp. Appl.*, 2005, 115: 145-152.
27. Stoeckli S., Mody K., Gessler C., Patocchi A., Jermini M., Dorn S. QTL analysis for aphid resistance and growth traits in apple. *Tree Genet. Genomes*, 2008, 4: 833-847.
28. Bus V.G.M., Change D., Bassett H.C.M., Bowatte D., Celenge F., Celton J.-M., Durel C.-E., Malone M.T., Patocchi A., Ranatunga A.C., Rikkerink E.H.A., Tustin D.S., Zhou J., Gardiner S.E. Genome mapping of three major resistance genes to wooly apple aphid (*Eriosoma lanigerum* Yausm.). *Tree Genet. Genomes*, 2008, 4: 223-236.