



## Оценка сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства по генам биосинтеза этилена с использованием молекулярных маркеров

© 2020. И. Н. Шамшин<sup>1</sup>✉, Д. Д. Тележинский<sup>2</sup>, А. В. Шлявас<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет», г. Мичуринск, Российская Федерация,

<sup>2</sup>ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург, Российская Федерация

<sup>3</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Одним из направлений селекции яблони на Среднем Урале является создание сортов с длительной лежкостью плодов. Способность плодов яблони сохранять свои потребительские качества длительный период является одним из важных показателей сорта. Значительную роль при хранении плодов играет количество вырабатываемого в них этилена. В работе представлены результаты идентификации генов, вовлеченных в контроль биосинтеза этилена у сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства. Всего проанализирован 21 сорт яблони. Основной задачей исследования было обнаружение аллелей *Md-ACO1-1* и *Md-ACSI-2* в гомозиготном состоянии. Сочетание этих аллелей в одном генотипе снижает выработку этилена в плодах, что способствует их длительной лежкости. Проведенный анализ показал наличие полиморфизма по двум исследуемым генам. Для гена *Md-ACO1* характерно наличие двух аллелей у большинства сортов. Аллель *Md-ACO1-1* в гомозиготном состоянии идентифицирован у сорта Исетское позднее. Анализ гена *Md-ACSI* выявил преобладание аллельной формы *Md-ACSI-1*. Аллельная форма *Md-ACSI-2* отмечена только у гетерозиготных образцов. Сочетание аллелей *Md-ACO1-1* и *Md-ACSI-2* в гомозиготном состоянии не обнаружено. Однако для селекционной работы представляют интерес и гетерозиготные формы. Они могут служить генисточником признака сниженного биосинтеза этилена при создании сортов с длительным сроком хранения. Такими сортами являются Сокол ясный, Аксена, Розоватое зимнее, Свердловчанин, Исетское позднее и Благая весть. Проведено сравнение сроков хранения плодов у генотипа сорта. Аллели, ассоциированные со сниженным уровнем биосинтеза этилена, характерны как для сортов с низкой, так и для сортов с высокой степенью лежкости.

**Ключевые слова:** гены синтеза этилена *Md-ACO* и *Md-ACS*, лежкость плодов, садоводство Среднего Урала

**Благодарности:** работа выполнена в рамках направления 150 Программы ФНИ государственных академий наук на 2013-2020 гг. по теме «Разработка и совершенствование методов селекционной работы, создание исходного материала и адаптивных сортов зерновых, зернобобовых, кормовых, плодово-ягодных, декоративных культур и картофеля» (№0773-2019-0022) и проекта № 0662-2019-0004 «Коллекции вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей ВИР – изучение и рациональное использование».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Шамшин И. Н., Тележинский Д. Д., Шлявас А. В. Оценка сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства по генам биосинтеза этилена с использованием молекулярных маркеров. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2020;21(6):706-712. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.6.706-712>

Поступила: 10.09.2020

Принята к публикации: 13.11.2020

Опубликована онлайн: 10.12.2020

## Evaluation of apple varieties of the Sverdlovsk horticultural breeding station according to the ethylene biosynthesis genes using molecular markers

© 2020. Ivan N. Shamshin<sup>1</sup>✉, Dmitrii D. Telezhinskiy<sup>2</sup>, Anna V. Shlyavas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russian Federation,

<sup>2</sup>Ural Federal Agricultural Research Center, Ural Branch of the RAS, Yekaterinburg, Russian Federation,

<sup>3</sup>N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russian Federation

One of the directions of apple breeding in the Middle Urals is the development of varieties with a long-term storability. The ability of apples to maintain their consumer qualities for a long period is one of the most important indicators of the variety. A significant role in the storage of apples is played by the amount of ethylene produced in them. The paper presents

*the results of identification of genes involved in the control of ethylene biosynthesis in apple varieties selected by the Sverdlovsk horticultural breeding station. A total of 21 apple varieties were analyzed. The main objective of the study was to detect Md-ACO1-1 and Md-ACSI-2 alleles in the homozygous state. The combination of these alleles in one genotype reduces the production of ethylene in fruits, which contributes to their long-term storability. The analysis showed the availability of polymorphism in the two studied genes. The Md-ACO1 gene is characterized by the availability of two alleles in most varieties. The homozygous Md-ACO1-1 allele was identified in the Isetskoe pozdnee variety. Analysis of the Md-ACSI gene revealed the predominance of the Md-ACSI-1 allele form. The Md-ACSI-2 allelic form was observed only in heterozygous samples. No combination of Md-ACO1-1 and Md-ACSI-2 alleles was found in the homozygous state. However, heterozygous forms are also of interest for breeding. They can serve as a source of a character of reduced ethylene biosynthesis when creating varieties with a long-term storability. Such varieties are Sokol yasnyy, Aksena, Rozovatoe zimnee, Sverdlovchanin, Isetskoe pozdnee, Blagaya vest'. The comparison of fruit storage periods and the genotype of the variety has been made. Alleles associated with a reduced level of ethylene biosynthesis are typical both for the varieties with low and high storability.*

**Key words:** *Md-ACO and Md-ACS ethylene synthesis genes, storability of fruits, horticulture of the Middle Urals*

**Acknowledgement:** the research was performed within the framework of Direction 150 of the Program of the Basic Research Institute of State Academies of Sciences for 2013-2020 on the topic «Development and improvement of breeding methods, creation of source material and adaptive varieties of cereals, legumes, fodder, fruit and berry, ornamental crops and potatoes» (No. 0773-2019-0022), Project No. 0662-2019-0004 «Collections of Vegetatively Propagated Crops (Potato, Fruit, Berry and Ornamental Crops, Grapes) and Their Wild Relatives at VIR: Studying and Sustainable Utilization».

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

**Conflict of interest:** the authors stated that there was no conflict of interest.

**For citation:** Shamshin I. N., Telezhinskiy D. D., Shlyavas A. V. Evaluation of apple varieties of the Sverdlovsk horticultural breeding station according to the ethylene biosynthesis genes using molecular markers. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2020;21(6):706-712. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.6.706-712>

Received: 10.09.2020

Accepted for publication: 13.11.2020

Published online: 10.12.2020

Селекция яблони на Среднем Урале – относительно новое направление в отечественном плодоводстве. Суровый климат и отсутствие естественного ареала распространения дикорастущих видов яблони не способствовали развитию культуры выращивания и создания местных сортов вплоть до конца XIX века, когда отдельные садоводы-опытники начали попытки создания сортов яблони, приспособленных к местным условиям. В течение последних десятилетий сотрудниками Свердловской селекционной станции садоводства создан ряд уникальных сортов, адаптированных к условиям уральского региона. Эти сорта обладают высокой зимостойкостью, повышенной устойчивостью к абиотическим стрессорам и болезням. Одним из направлений селекции яблони на Среднем Урале является получение позднезимних и зимних сортов с продолжительным периодом хранения плодов [1].

Срок хранения плодов – одна из ключевых характеристик сорта яблони. Он зависит не только от сроков сбора, условий хранения и транспортировки плодов, но от биологических особенностей сорта. Сложная генетическая структура данного признака значительно затрудняет процесс создания новых генотипов с высокими показателями лежкости. Одним из путей решения данной проблемы является использование маркер-опосредованной селекции [2].

Для изучения генетического потенциала яблони по степени сохранности плодов создан ряд молекулярных маркеров. Они успешно применяются как в зарубежных, так и отечественных исследованиях [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

На срок хранения плодов значительно влияет количество эндогенного этилена. Установлено, что его синтез у растений зависит от двух ферментов 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатсинтаза (АСС-синтаза (ACS) и 1-аминоциклопропан-1-карбоксилатоксидаза (АСО). За выработку этих ферментов отвечают две большие группы генов. Хорошо изучены из них два гена *Md-ACO* и *Md-ACS* [9, 12, 13, 14, 15, 16]. Наибольшее влияние на выработку этилена в плодах оказывает ген *Md-ACSI*, который имеет два аллельных варианта *Md-ACSI-1* и *Md-ACSI-2*. Аллель *Md-ACSI-2* связан со сниженным уровнем этилена, что обусловлено вставкой ретротранспозона в промотерной зоне [15, 9]. Два аллеля также были выявлены у локуса *Md-ACO*. Мутация сайта в третьем интроне является причиной низкого уровня экспрессии гена у аллеля *Md-ACO1-1* [15, 17, 18, 19].

**Цель работы** – провести анализ сортов яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства с использованием маркеров генов, вовлеченных в контроль биосинтеза этилена, и выявить генисточники ценного признака для дальнейшей селекционной работы.

**Материал и методы.** Для проведения молекулярно-генетического анализа использовали следующие методы. Выделение ДНК проводили из молодых листьев с использованием реагентов «Проба-НК» производства ООО «АгроДиагностика». Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTP, 2,5 мМ MgSO<sub>4</sub>, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 10х стандартного ПЦР-буфера. Реакцию проводили с помощью прибора SimpliAmp (Life Technology) по программе: 94 °С – 2 мин;

35 циклов: 65 °С – 45 с, 72 °С – 2 мин, 94 °С – 45 с; 1 цикл: 65 °С – 45 с; 72°С – 10 мин. [15]. Продукты амплификации разделялись путем электрофореза в 2-процентном агарозном геле. После электрофореза гель анализировали в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора. Оценку коллекционного материала проводили с применением ранее созданных молекулярных маркеров. При проведении реакции использованы последовательности праймерных пар, синтезированных ЗАО «Синтол», г. Москва (табл. 1).

Таблица 1 – Последовательности праймерных пар, использованных в работе / Table 1 – Sequences of primer pairs used in the work

Праймерные пары / Primer pairs	Последовательность / Sequence	Источник / Reference
Md-ACO1 F	5'-TCC CCC CAA TGC ACC ACT CCA-3'	[15]
Md-ACO1 R	5'-GAT TCC TTG GCC TTC ATA GCT TC-3'	
Md-ACSI F	5'AGAGAGATGCCATTTTTGTTCGTAC-3'	
Md-ACSI R	5'-CCTACAAACTTGCCTGG GGATTATAAGTGT-3'	

В качестве биологических объектов исследования использованы сорта селекции Свердловской селекционной станции садоводства. Всего проанализирован 21 сорт яблони (табл. 2).

Оценку степени лежкости проводили с использованием холодильной камеры Ариада Рапсодия R1400M без регулируемой газовой среды при температуре +4 °С. Плоды анализируемых сортов яблони собирали в стадии технической зрелости, каждого сорта было собрано по 100 плодов, которые помещали в пластиковые контейнеры в 2 слоя, а затем

устанавливали в камеру. Окончание срока лежкости считали при потере товарных качеств у 10 % плодов. Срок хранения плодов оценивался на протяжении трех лет.

**Результаты и их обсуждение.** Для всех исследуемых образцов получены четкие воспроизводимые фрагменты (рис. 1, 2).

Анализ сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства по локусу *Md-ACO1* показал наличие двух аллельных вариантов гена *Md-ACO1-1* (525 пн) и *Md-ACO1-2* (587 пн) (рис 1, табл. 2).

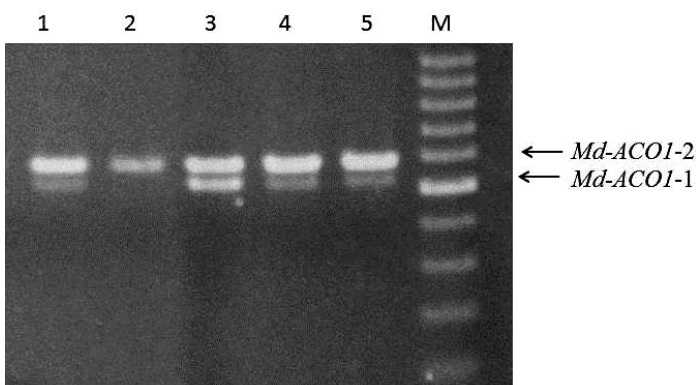


Рис. 1. Результаты идентификации гена *Md-ACO1* у сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства:

1 – Аксена; 2 – Экранное; 3 – Розоватое зимнее; 4 – ВЭМ розовый; 5 – Соковое-3; М – маркер молекулярного размера 100 пн /

Fig. 1. The results of the identification of the *Md-ACO1* gene in apple varieties of the Sverdlovsk horticultural breeding station: 1 – Aksena; 2 – Ekranное; 3 – Rozovatoe zimnee; 4 – VEM rozovyyj; 5 – Sokovoe-3; M – molecular weight marker (100 bp)

Большинство исследуемых образцов (15 сортов) являются гетерозиготами по данному локусу и несут оба аллеля. Гомозиготным по аллелю *Md-ACO1-1* является сорт Исетское

позднее. Образцы Папироянтарное, Розочка, Таватуй, Экранное, Краса Свердловска, Первоуральская – гомозиготы по аллелю *Md-ACO1-2*.

Таблица 2 – Распределение аллельных вариантов генов биосинтеза этилена у анализируемых сортов яблони и сроки их хранения /

Table 2 – Distribution of allelic variants of ethylene biosynthesis genes in the analyzed apple varieties and their storage periods

Сорт / Variety	Гены биосинтеза этилена (пн) / Ethylene biosynthesis genes (bp)				Лежкость плодов, дни / Storability of fruits, day
	Md-ACO1		Md-ACS1		
	Md-ACO1-1 (525 пн/bp)	Md-ACO1-2 (587 пн/bp)	Md-ACS1-1 (489 пн/bp)	Md-ACS1-2 (655 пн/bp)	
<i>Летнего срока созревания / Summer</i>					
Сокол ясный / Sokol yasnyy	+	+	+	+	27±6**
Аксена / Aksena	+	+	+	+	24±9
Серебряное копытце / Serebryanoe kopytse	+	+	+	–	34±16
Горнист / Gornist	+	+	+	–	26±5
Исеть белая / Iset' belaya	+	+	+	–	23±9
Папирыантарное / Papiryantarnoe	–	+	+	–	24±8
Уральское розовое / Ural'skoe rozovoe	+	+	+	–	28±9
<i>Осеннего срока созревания / Autumn</i>					
Розочка / Rozochka	–	+	+	–	57±20
Соковое-3 / Sokovoe-3	+	+	+	–	31±15
Розоватое зимнее / Rozovatoe zimnee	+	+	+	+	59±17
Таватуй / Tavatuj	–	+	+	–	64±17
Экранное / Ekranное	–	+	+	–	121±32
Румянка свердловская / Rumyanka sverdlovskaya	+	+	+	–	115±35
Данила / Danila	+	+	+	–	57±5
Родниковая / Rodnikovaya	+	+	+	–	97±23
<i>Зимнего срока созревания / Winter</i>					
Свердловчанин / Sverdlovchanin	+	+	+	+	146±13
Исетское позднее / Iset'skoe pozdnee	+	–	+	+	171±15
Краса Свердловска / Krasa Sverdlovskaya	–	+	+	–	204±56
ВЭМ розовый / VEM rozovyy	+	+	+	–	177±19
Первоуральская / Pervoural'skaya	–	+	+	–	231±23
Благая весть / Blagaya vest'	+	+	+	+	280±44

\* «-» – отсутствие маркера / absence of the marker, «+» – наличие маркера / presence of the marker,

\*\* среднее значение / average; ± – ошибка среднего / average error.

■ – наличие у образца двух маркеров лежкости / the sample has two markers of storability

Предыдущий анализ сортов яблони отечественной и зарубежной селекции показал аналогичный результат. Так, при анализе 72 образцов ген *Md-ACO1* в гетерозиготном состоянии был идентифицирован у 56 [2]. Преобладание гетерозиготных форм отмечены

и при другом исследовании 48 сортов отечественной селекции [6]. Анализ 96 сортов российской народной селекции показал, что все они имеют в своем генотипе оба аллельных варианта гена *Md-ACO1*. В работе, проведенной О. Ю. Урбанович [8] с коллегами, был

проведен анализ 127 сортов яблони как отечественной, так и зарубежной селекции. Из них только 17 образцов имели аллель *Md-ACO1-1*. При этом два образца были гомозиготными. В исследованиях зарубежных сортов яблони отмечена немного иная картина. В работе Н. Nybom [4] отмечено, что при анализе 127 сортов яблони большинство образцов были гомозиготны по аллелю *Md-ACO1-2*. При этом анализировались и стародавние за-

рубежные сорта. Аналогичная картина наблюдалась и при исследовании 28 сортов корейской селекции. Из них 25 образцов были гомозиготны по аллелю *Md-ACO1-2* [20]

Анализ сортов Свердловской селекционной станции садоводства по локусу *Md-ACS1* позволил идентифицировать два аллельных варианта гена *Md-ACS1-1* (489 пн) и *Md-ACS1-2* (655 пн) (табл. 2, рис. 2).

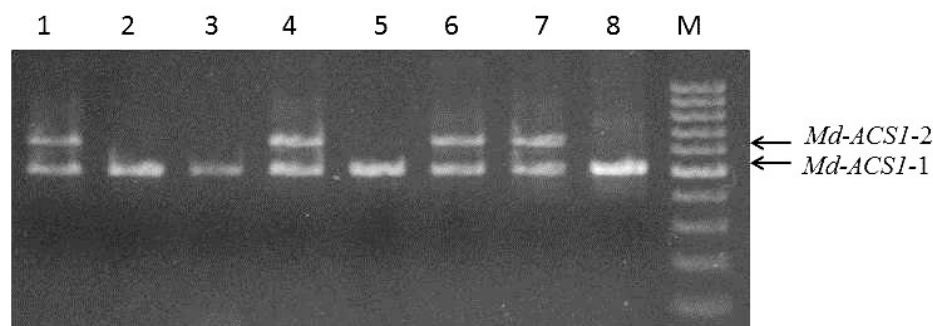


Рис. 2. Результаты идентификации гена *Md-ACS1* у сортов яблони Свердловской селекционной станции садоводства: 1 – Сокол ясный; 2 – Папироянтарное; 3 – Данила; 4 – Аксена; 5 – Экранное; 6 – Розоватое зимнее; 7 – Исетское позднее; 8 – Уральское розовое; М – маркер молекулярного размера 100 пн /

Fig. 2. The results of identification of the *Md-ACS1* gene in apple varieties of the Sverdlovsk horticultural breeding station: 1 – Sokol yasnyj; 2 – Papiroyantarnoe; 3 – Danila; 4 – Aksena; 5 – Ekrannoe; 6 – Rozovatoe zimnee; 7 – Isetskoe pozdnee; 8 – Ural'skoe rozovoe; M – molecular weight marker (100 bp)

Большинство сортов яблони (15 образцов) гомозиготны по аллелю *Md-ACS1-1*. Остальные генотипы являются гетерозиготами. Не выявлено гомозиготных форм по аллелю *Md-ACS1-2*.

Проведенный ранее анализ сортов яблони показал ряд закономерностей в распространении аллельных вариантов генов *Md-ACO1* и *Md-ACS1*. Н. Nybom [18] сообщает, что аллель 2 гена *Md-ACS1* встречался у сортов яблони, созданных до начала XIX века, с частотой 20 %. Затем частота его встречаемости увеличивается до 50 %, что свидетельствует о целенаправленном отборе сортов с этим аллелем.

В коллекциях отечественных сортов как стародавних, так и современных яблонь преобладает аллель 1. Аллель *Md-ACS1-2* в гомозиготном состоянии не встречается. В большинстве сортов данный ген представлен в гетерозиготном состоянии [2, 7, 8]. Аналогичная картина наблюдалась и при исследовании местных корейских сортов [20]. Однако у значительной части зарубежных сортов и ряда современных отечественных доля аллеля *Md-ACS1-2* увеличивается, что подтверждает ряд работ [3, 4, 6, 14, 15, 18, 19, 21, 22].

Исследуемые сорта яблони были проанализированы по срокам хранения плодов. Образцы разделены на три группы в зависимости от сроков созревания (табл. 2). Лежкость плодов сравнивали с результатами молекулярного анализа.

Первая группа – сорта летнего срока созревания. Продолжительность хранения плодов составляла порядка 30 дней. Аллели, ответственные за сниженную выработку этилена, идентифицированы у двух сортов Сокол ясный и Аксена, которые являются гетерозиготными по двум анализируемым локусам. У остальных образцов из этой группы аллель *Md-ACS1-2* отсутствует. Кроме того, у сорта Папироянтарное не выявлено и аллели *Md-ACO1*. При этом, вне зависимости от аллельного состояния генов биосинтеза этилена, срок хранения для всех летних сортов был одинаков.

Сорта осеннего срока созревания, входящие во вторую группу, хранились от 30 до 120 дней. Минимальную лежкость имеет сорт Соковое-3 (31 день), а максимальную – сорта Экранное и Румянка свердловская (121 и 115 дней соответственно). Аллели *Md-ACO1-1* и *Md-ACS1-2* идентифицированы у сорта

Розоватое зимнее. У образцов Розочка, Таватуй и Экранное аллели *Md-ACO1-1* и *Md-ACSI-2* отсутствовали. При этом срок хранения этих сортов был больше, чем у тех, которые эти аллели имели.

Плоды яблони зимнего срока созревания имели различную лежкость. Она варьировала от 146 дней у сорта Свердловчанин до 280 дней у сорта Благая весть. Аллели *Md-ACO1* и *Md-ACSI-2* выявлены у трех сортов: Свердловчанин, Исетское позднее и Благая весть. Не идентифицированы они у сортов Краса Свердловска и Первоуральская. В этой группе также нет связи лежкости с аллельным состоянием генов биосинтеза этилена.

В целом аллели, ассоциированные со сниженным уровнем биосинтеза этилена, характерны как для сортов с низкой, так и для сортов с высокой степенью лежкости. Аналогичные результаты были отмечены и в других работах [8]. Однако среди исследуемых образцов не идентифицировано ни одного сорта гомозиготного по всем аллелям сниженного биосинтеза этилена. Возможно, что наличие

только дефектных вариантов гена в генотипе влияет на увеличение лежкости плодов, что подтверждается оригинальной работой F. Costa [15].

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что в сортах яблони селекции Свердловской селекционной станции садоводства не выявлены генотипы с аллелями *Md-ACO1-1* и *Md-ACSI-2* в гомозиготном состоянии. В большинстве анализируемых сортов гены биосинтеза этилена представлены двумя аллельными вариантами. При сравнении продолжительности хранения и аллельного состояния генов не установлено зависимости лежкости от генотипа. Однако анализ с использованием молекулярных маркеров выявил генисточники признака, вовлеченного в контроль продолжительной сохранности плодов. Перспективными для селекции являются образцы гетерозиготные по генам *Md-ACO1* и *Md-ACSI*. Всего выявлено 6 таких сортов: Сокол ясный и Аксена – сорта летнего срока созревания; Розоватое зимнее – осеннего срока созревания; Исетское позднее и Благая весть – зимнего срока созревания.

#### References

1. Котов Л. А. Селекционная работа по яблоне на Среднем Урале. Современное садоводство. 2019;(2):13-21. DOI: <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10203>
- Kotov L. A. *Selektsionnaya rabota po yablone na Srednem Urale*. [Apple breeding in the middle Urals]. *Sovremennoe sadovodstvo* = Cotemporary horticulture. 2019;(2):13-21. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10203>
2. Савельев Н. И., Шамшин И. Н., Кудрявцев А. М. Генетический полиморфизм исходных форм яблони по аллелям генов длительной лежкости и качества плодов. Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2014;(3):17-20. Режим работы: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21509205>
- Savel'ev N. I., Shamshin I. N., Kudryavtsev A. M. *Geneticheskiy polimorfizm iskhodnykh form yablони po allelyam genov dlitel'noy lezhkosti i kachestva plodov*. [Apple for the alleles of genes of shelf life and quality of fruits]. *Doklady Rossiyskoy akademii sel'skokhozyaystvennykh nauk* = Reports of the Russian Academy of agricultural sciences. 2014;(3):17-20. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=21509205>
3. Costa F., Cappellin L., Farneti B., Tadiello A., Romano A., Soukoulis C., Sansavini S., Velasco R., Biasioli F. Advances in QTL mapping for ethylene production in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Postharvest Biology and Technology*. 2014;87:126-132. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.08.013>
4. Nybom H., Ahmadi-Afzadi M., Sehic J., Hertog M. DNA marker-assisted evaluation of fruit firmness at harvest and post-harvest fruit softening in a diverse apple germplasm. *Tree Genetics & Genomes*. 2013;9:279-290. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0554-z>
5. Slađana M., Milan L. Determination of ETR1 genotypes in promising apple selections developed at Fruit Research Institute – Čačak. *Genetika*. 2013;45(1):189-196. DOI: <https://doi.org/10.2298/GENSR1301189M>
6. Suprun I. I., Tokmakov S. V. Allelic diversity of ethylene biosynthesis-related *Md-ACSI* and *Md-ACO1* genes in the Russian apple germplasm. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2013;3:451-454. DOI: <https://doi.org/10.1134/S2079059713060105>
7. Шамшин И. Н., Шлявас А. В., Трифонова А. А., Борис К. В., Кудрявцев А. М. Полиморфизм генов биосинтеза этилена и экспансина уместных и стародавних сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.) из коллекции генетических ресурсов растений ВИР. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(6):660-666. DOI: <https://doi.org/10.18699/VJ18.408>
- Shamshin I. N., Shlyavas A. V., Trifonova A. A., Boris K. V., Kudryavtsev A. M. Ethylene and expansin biosynthesis related genes polymorphism in local apple (*Malus domestica* Borkh.) cultivars from VIR collection of plant genetic resources. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):660-666. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18699/VJ18.408>
8. Урбанович О. Ю., Козловская З. А., Заблочкая Е. А., Картель Н. А. Аллельный состав генов *Md-ACO1*, *Md-ACSI* и *Md-Exp7* сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.) с различным сроком хранения плодов. Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. 2013;(3):47-55. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25378568>
- Urbanovich O. Yu., Kozlovskaya Z. A., Zablotskaya E. A., Kartel' N. A. *Allel'nyy sostav genov Md-ACO1, Md-ACSI i Md-Exp7 sortov yablони (Malus domestica Borkh.) s razlichnym srokom khraneniya plodov*. [Allelic diversity of Md-ACSI, Md-ACO1 and Md-EXP7 genes of apple cultivars (*Malus x domestica*) with different storability]. *Izvestiya Natsional'noy akad-*

*emii nauk Belarusi. Seriya biologicheskikh nauk* = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series. 2013;(3):47-55. (In Belarus). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25378568>

9. Dougherty L., Zhu Y., Xu K. Assessing the allelotypic effect of two aminocyclopropane carboxylic acid synthase-encoding genes *MdACS1* and *MdACS3a* on fruit ethylene production and softening in *Malus*. *Hortic Res.* 2016;3:16024. DOI: <https://doi.org/10.1038/hortres.2016.24>

10. Chen H., Shao H., Fan S., Ma J., Zhang D., Han M. Identification and phylogenetic analysis of the POLYGALACTURONASE gene family in apple. *Horticultural Plant Journal.* 2016;2(5):241-252. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.01.004>

11. Chang H. Y., Tong C. Identification of Candidate Genes Involved in Fruit Ripening and Crispness Retention Through Transcriptome Analyses of a 'Honeycrisp' Population. *Plants.* 2020;9(10):1335. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9101335>

12. Sunako T., Sakuraba W., Senda M., Akada S., Ishikawa R., Niizeki M., Harada T. An allele of the ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene (*ACS1*) in apple fruit with a long storage life. *Plant Physiology.* 2000;119(4):1297-1304. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.119.4.1297>

13. Bleecker A. B., Kende H. Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. Annual review of cell and developmental biology. 2000;16(1):1-18. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.16.1.1>

14. Harada T., Sunako T., Wakasa Y., Soejima J., Satoh T., Niizeki M. An allele of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene (*Md-ACS1*) accounts for the low level of ethylene production in climacteric fruits of some apple cultivars. *Theoretical and Applied Genetics.* 2000;101(5-6):742-746. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220051539>

15. Costa F., Stella S., Van de Weg W. E., Guerra W., Cecchin M., Dallavia J., Sansavini S. Role of the genes *Md-ACO1* and *Md-ACS1* in ethylene production and shelf life of apple (*Malus domestica* Borkh.). *Euphytica.* 2005;141(1-2):181-190. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-005-6805-4>

16. Defilippi B. G., Kader A. A., Dandekar A. M. Apple aroma: alcohol acyltransferase, a rate limiting step for ester biosynthesis, is regulated by ethylene. *Plant Science.* 2005;168(5):1199-1210. URL: <https://www.ucanr.edu/datastoreFiles/234-449.pdf>

17. Costa F., Peace C. P., Stella S., Serra S., Musacchi S., Bazzani M., Van de Weg W.E. QTL dynamics for fruit firmness and softening around an ethylene-dependent polygalacturonase gene in apple (*Malus×domestica* Borkh.). *Journal of Experimental Botany.* 2010;61(11):3029-3039. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/erq130>

18. Nybom H., Sehic J., Garkava-Gustavsson L. Modern apple breeding is associated with a significant change in the allelic ratio of the ethylene production gene *Md-ACS1*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology.* 2008;83(5):673-677. DOI: <https://doi.org/10.1080/14620316.2008.11512442>

19. Zhu Y., Barritt B. H. *Md-ACS1* and *Md-ACO1* genotyping of apple (*Malus×domestica* Borkh.) breeding parents and suitability for marker-assisted selection. *Tree genetics & genomes.* 2008;4(3):555-562. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11295-007-0131-z>

20. Kwon Y. S., Kwon S. I., Kim S. A., Kweon H. J., Yoo J., Ryu S., Kim J. H. Estimation of storability for Korean apples (*Malus domestica*) using *Md-ACS1* and *Md-ACO1* DNA marker. *Korean J. Food Preserv.* 2017;24(7):891-897. DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.7.891>

21. Oraguzie N. C., Iwanami H., Soejima J., Harada T., Hall A. Inheritance of the *Md-ACS1* gene and its relationship to fruit softening in apple (*Malus×domestica* Borkh.). *Theoretical and Applied Genetics.* 2004;108(8):1526-1533. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1574-8>

22. Oraguzie N. C., Volz R. K., Whitworth C. J., Bassett H. C., Hall A. J., Gardiner S. E. Influence of *Md-ACS1* allelotype and harvest season within an apple germplasm collection on fruit softening during cold air storage. *Postharvest biology and technology.* 2007;44(3):212-219. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.013>

#### **Сведения об авторах**

✉ **Шамшин Иван Николаевич**, кандидат биол. наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетического анализа плодовых растений, ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет», ул. Интернациональная, д. 101, г. Мичуринск, Тамбовская область, Российская Федерация, 393760, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4464-1876>, e-mail: [ivan\\_shamshin@mail.ru](mailto:ivan_shamshin@mail.ru)

**Тележинский Дмитрий Дмитриевич**, старший научный сотрудник структурного подразделения «Свердловская селекционная станция садоводства», ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук», ул. Белинского, д. 116 а, Екатеринбург, Российская Федерация, 620142, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4783-2029>, e-mail: [ddt77@list.ru](mailto:ddt77@list.ru)

**Шлявас Анна Владимировна**, младший научный сотрудник отдела генетических ресурсов плодовых культур, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова», ул. Большая Морская, д. 42, 44, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 190000, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8009-6780>, e-mail: [ann2668@yandex.ru](mailto:ann2668@yandex.ru)

#### **Information about the authors**

✉ **Ivan N. Shamshin**, PhD in Biology, Head of the Laboratory of Molecular-Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, Internationalnaya str., 101, Michurinsk, Tambov region, Russian Federation, 393760, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4464-1876>, e-mail: [ivan\\_shamshin@mail.ru](mailto:ivan_shamshin@mail.ru)

**Dmitry D. Telezhinskiy**, senior researcher of structural subdivision «Sverdlovsk horticultural breeding station», Ural Federal Agricultural Research Center, Ural Branch of the RAS 116 a, Belinsky Street, Ekaterinburg, Russian Federation, 620142, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4783-2029>, e-mail: [ddt77@list.ru](mailto:ddt77@list.ru)

**Anna V. Shlyavas**, junior researcher, the Department of Fruit Crops Genetic Resources, N. I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), Bolshaya Morskaya Str., 42, 44, St. Petersburg, Russian Federation, 190000, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8009-6780>, e-mail: [ann2668@yandex.ru](mailto:ann2668@yandex.ru)

✉ – Для контактов / Corresponding author