

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ТОМАТА НА
УСТОЙЧИВОСТЬ К ФИТОФТОРОЗУ, ФУЗАРИОЗУ И ВИРУСУ ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИС. О. Корж^{1,2,*}, Е. И. Овод¹, А. И. Кушнир³, О. Л. Горун^{1,2}, Е. В. Дубина^{1,2}, И. В. Козлова¹, А. Л. Назаров²¹Федеральный научный центр риса

350921, Краснодарский край, г. Краснодар, п. Белозерный, 3;

²Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина

350044, г. Краснодар, ул. имени Калинина, 13;

³Кубанский государственный университет,
350040, г. Краснодар, Ставропольская ул., 149

* E-mail: S.O.Korzh@yandex.ru

Поступила в редакцию 07.11.2022, принята к печати 30.01.2023

Молекулярно-генетическая оценка целевых генов – один из наиболее адаптивных инструментов в селекции овощных культур, который активно применяется в современных селекционных программах. Анализ исходного материала растений томата на наличие генов устойчивости к фитофторозу, фузариозу и вирусу табачной мозаики с использованием молекулярных маркеров позволяет выделять интересующие генотипы, тем самым сокращая объем анализируемого селекционного материала, что приводит к более эффективному отбору генотипов томата. Целью данного исследования является выделение новых исходных генотипов томата, обладающих устойчивостью к заболеваниям, при помощи ДНК-маркерных систем. Объектом исследований послужили 140 селекционных образцов томата ФГБНУ «Федеральный научный центр риса». Молекулярно-генетический анализ проводился при помощи ПЦР с использованием SCAR и SNP-маркеров. Идентификация гена устойчивости к фитофторозу *Ph3* проводилась с использованием маркера R2M1S. Наличие гена устойчивости к фузариозному увяданию *I2* определялось с использованием праймерной пары I-2/5, а гена устойчивости к вирусу табачной мозаики *Tm2* – при помощи маркера TMV-2262. С помощью праймерных пар удалось выделить генотипы, которые имеют гены устойчивости, находящиеся в гомозиготном состоянии, образцы, сочетающие в себе устойчивость к фитофторозу и ВТМ, фузариозу и ВТМ, а также образец, имеющий гены устойчивости *I2I2*, *Tm2Tm2* и *Ph3ph3*. Полученные данные свидетельствуют об эффективности применения указанных молекулярных маркеров при скрининге коллекции растений томата на наличие устойчивости к заболеваниям, вызванным возбудителями *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* и *Nicotiana virus*.

Ключевые слова: томат, *Solanum lycopersicum*, селекция, молекулярные маркеры, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *Nicotiana virus*.

MOLECULAR GENETIC EVALUATION OF TOMATO BREEDING MATERIAL FOR RESISTANCE TO
LATE BLIGHT, FUSARIUM AND TOBACCO MOSAIC VIRUSS. O. Korzh^{1,2,*}, E. I. Ovod¹, A. I. Kushnir³, O. L. Gorun^{1,2}, E. V. Dubina^{1,2}, I. V. Kozlova¹, A. L. Nazarov²¹Federal Scientific Rice Centre, 3, Belozerny, Krasnodar, 350921, Russian Federation;²Kuban State Agrarian University named after I. T. Trubilin,
13, Kalinina St., Krasnodar, 350044, Russian Federation;³Kuban State University, 149, Stavropolskaya St., Krasnodar, 350040, Russia Federation

Molecular genetic evaluation of target genes is one of the most adaptive tools in vegetable crop breeding, which is actively used in modern breeding programs. The analysis of the source material of tomato plants for the presence of resistance genes to late blight, fusarium and tobacco mosaic virus (TMV) using molecular markers allows to isolate the genotypes of interest, thereby reducing the volume of the analyzed breeding material, which leads to a more efficient selection of tomato genotypes. The aim of this study was to isolate new initial tomato genotypes with the disease resistance using DNA marker systems. The object of research was 140 tomato breeding samples of the Federal Rice Research Center. Molecular genetic analysis was performed by PCR method using SCAR and SNP markers. Identification of the late blight resistance gene *Ph3* was carried out using the R2M1S marker. The presence of the fusarium wilt resistance gene *I2* was determined using a primer pair I-2/5, and the presence of the *Tm2* tobacco mosaic virus resistance gene was determined using the TMV-2262 marker. Using the primer pairs, it was possible to identify genotypes that have resistance genes in the homozygous state, samples that combine resistance to late blight and TMV, fusarium and TMV, as well as a sample with resistance genes *I2I2*, *Tm2Tm2* and *Ph3ph3*. The obtained data indicate that these molecular markers can be effectively used for screening collections of tomato plants for the presence of resistance to diseases caused by pathogens *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* and *Nicotiana virus*.

Keywords: tomato, *Solanum lycopersicum*, breeding, molecular markers, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*, *Nicotiana virus*.

ВВЕДЕНИЕ

Томат – широко возделываемая во всем мире товарная культура. Плоды томата используются как в свежем, так и в переработанном виде. Он выращивается в открытом и закрытом грунте. Краснодарский край является регионом, где возделывание данной культуры возможно как в тепличных комплексах, так и в полевых условиях. В открытом грунте растения томата подвергаются воздействию различных негативных стресс-факторов биотического и абиотического характера (Scott, 2007). Доминирующими биотическими стрессорами являются заражения патогенами и вирусами. Для борьбы с ними проводится широкий спектр мероприятий по защите растений, которые повышают затраты на выращивание и могут негативно воздействовать на условия окружающей среды. Для снижения пестицидной нагрузки в технологии возделывания эффективно выращивание сортов и гибридов томата, обладающих устойчивостью к патогенам и вирусам на генетическом уровне.

Использование ДНК-маркеров для идентификации генов устойчивости в последнее время стало широко внедряться в селекционный процесс. Разработано большое количество маркеров, таких как CAPS-маркеры (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences – полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК), SNP (Single Nucleotide Polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм), SSR (Simple Repeating Sequences – простой повтор последовательности) и др. С помощью маркер-сопутствующей селекции (MAS) поиск генотипов томатов, устойчивых к различным видам патогенов, стал намного эффективнее. Большинство генов устойчивости были идентифицированы у дикорастущих видов, а затем путем гибридизации перенесены в генотип культурного томата. В Краснодарском крае распространенными патогенами, вызывающими заболевания томата в открытом грунте, являются возбудители фитофтороза (29%), фузариоза (19%) и вируса табачной мозаики – ВТМ (5%) (Нековаль и др., 2020).

Фитофтороз, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, распространен повсеместно и является заболеванием, оказывающим наиболее разрушительное воздействие на культуру томата. Болезнь поражает все надземные органы томата – как вегетативные, так и репродуктивные. Чаще всего поражение начинается с листовых пазух или верхушек побегов. На плодах образуются вначале светло-коричневые, а затем расплывчатые темно-бурые твердые пятна, которые постепенно распространяются по поверхности и вглубь плода. На пораженных органах, в первую очередь на листьях с нижней, а иногда и с верхней стороны, образуется обильный беловатый налет спороношения (Поликсенова, 2008). В результате многолетних исследований генетической устойчивости томатов к фитофторозу были идентифицированы три основных гена устойчивости у дикого вида томата с красными плодами *S. pimpinellifolium* *Ph-1*, *Ph-2* и *Ph-3*, которые были локализованы на хромосомах томата 7, 10 и 9 соответственно. Неполно доминантный ген

устойчивости *Ph-3* придает неполную доминирующую устойчивость к нескольким изолятам *P. infestans*, включая те, что преодолевают *Ph-1* и *Ph-2* и широко используются в программах селекции томатов (Foolad et al., 2012). Метод молекулярного маркирования, основанный на определении амплифицированной области, позволяет провести оценку изменчивости растения и изучить аллели генов. Исследователями был разработан кодоминантный SCAR-маркер, позволяющий выявить оба аллеля (гетерозиготное или гомозиготное состояние) гена интереса (Zhang et al., 2014).

Не менее опасным заболеванием томата является фузариоз. Он проявляется в виде симптомов, похожих на увядание, что влечет за собой потери урожая. Заражение может происходить через почву, в которой находятся хламидоспоры *Fusarium oxysporum*: патоген проникает в клетки корней и затем распространяется по растению-хозяину через сосудистые пучки, закупоривая тем самым прорастающими микроконидиями верхние проводящие пучки и выделяя токсины. Листья или часть зараженного растения теряют упругость, желтеют и увядают, что приводит к гибели растений. Известно, что устойчивость томата к фузариозному увяданию зависит от наличия белков авирулентности. Известны три таких белка: *Six4*, *Six3*, *Six1*, которые соответствуют белкам патогена *Fusarium oxysporum* *Avr1*, *Avr2*, *Avr3*. Гены, придающие томату резистентность к фузариозному увяданию, обозначаются *I-1*, *I-2* и *I-3* (Neha et al., 2016). Устойчивость к расам патогена была обнаружена среди диких форм томата. Ген *I-1*, придающий устойчивость к первой расе *F. oxysporum*, был выявлен в гибридной комбинации *L. esculentum* × *L. pimpinellifolium*, ген *I-2* обнаружен у *L. peruvianum*, а ген *I-3* – у *L. pennellii* (Cirulli et al., 1996; Zhang et al., 2014; Matic et al., 2016). Для идентификации данных генов разработано множество различных маркеров. Наиболее эффективными для идентификации генов устойчивости оказались SCAR-маркеры. Доминантный ген *I-2* был успешно идентифицирован с помощью кодоминантного маркера SCAR I-2/5F и I-2/5R. Группа исследователей (Yu and Zou, 2008) успешно сконструировала данный маркер из последовательности гена *I-2*, с его помощью можно различать устойчивые генотипы *I-2/I-2* с фрагментом 693 п. н., восприимчивые *i-2/i-2* с 633 п. н. и 760 п. н. и три полосы в гетерозиготах *I-2/i-2* (Зайцева и др., 2018).

Вирус табачной мозаики – один из распространенных в природе вирусов. Заражение им томата является серьезным лимитирующим биотическим фактором. Возбудителем является палочковидный РНК-содержащий вирус с одноименным названием – вирус табачной мозаики, или *Nicotiana virus* (Toshpulatov, 2020). В зависимости от условий проявления заболевания может быть различным: внутренний некроз плодов, нитевидность листовой пластины, но наиболее часто встречаемой формой является мозаичная расцветка листьев. Химические средства борьбы с ним малоэффективны. Устойчивость культуры к ВТМ обуславливается *Tm-1*

и аллелями *Tm-2* и *Tm-2²* (Хохлова, 2011). Ген *Tm-1* был найден у дикого подвида томатов *Lycopersicon hirsutum*, а гены устойчивости *Tm-2* и *Tm-2²* были идентифицированы у *L. Peruvianum* (El-Aziz et al., 2008). Практическую значимость для селекции представляет идентификация доминантного гена *Tm2*. Он локализован на 9 хромосоме. Ген обеспечивает устойчивость к ВТМ на тканевом уровне посредством предотвращения передвижения вируса через плазмалемму между клетками и тем самым придает большую устойчивость к различным штаммам вируса. Исследование образцов на наличие гена проводилось с применением кодоминантных SNP-маркеров TMV-2262.

Целью данного исследования является выделение новых исходных генотипов томата, обладающих устойчивостью к заболеваниям, при помощи ДНК-маркерных систем.

Задачи:

1. Отобрать эффективные праймерные пары для идентификации гена устойчивости томата к фитофторозу, фузариозу и ВТМ.
2. Проанализировать F_2 сегрегирующую популяцию на наличие генов *Ph3*, *I2*, *Tm2*.
3. При помощи ДНК-маркирования выделить генотипы, представляющие интерес для создания перспективного селекционного материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований послужили селекционные образцы отдела овощекртофелеводства ФГБНУ «ФНЦ риса». В качестве контрольных образцов выступали сорта, имеющие в своем генотипе аллели устойчивости: сорт Оттава-30 (ген *Ph3*) для фитофтороза, образец 682-7/20 (фирма-оригинатор ГАВРИШ) для фузариоза (ген *I2*) и гибрид Кассиопея (фирма-оригинатор ПОИСК) для ВТМ (ген *Tm2²*).

Работа была выполнена на базе тепличного комплекса и лаборатории информационных, цифровых и биотехнологий ФГБНУ «ФНЦ риса». Были проанализированы четыре гибридные комбинации F_2 поколения растений томата (7ф 31-1(1)×С 2000-1; 14-2×Ку6-1; 2ф-2-17×Ку6-1; Ш 11-1×Бок-1). Всего было проанализировано 140 образцов.

Выделение ДНК проводилось из отобранных листьев с использованием цетилтриметиламмонийбромид (СТАВ) в качестве основного лизирующего буфера по ранее отработанному и модифицированному в лаборатории методу (Murray and Thompson).

При оценке использовались молекулярные маркеры для идентификации гена устойчивости томата к фитофторозу, фузариозу и ВТМ. Последовательность праймерных пар представлена в табл. 1.

Таблица 1. Нуклеотидная последовательность пар праймеров, используемых в работе

Название	Ген	Прямая последовательность	Обратная последовательность
R2M1S	<i>Ph3</i>	GGAAATCCTCCGCCTTACTT	CGAGTTGCAACCTCTAGACTCA
I-2/5	<i>I2</i>	CAAGGAACTGCGTCTGTCTG	ATGAGCAATTTGTGGCCAGT
TMV-2262	<i>Tm2²</i>	GGGTATACTGGGTCCATTC	CCGTGCACGTTACTTCAGACAA

Реакционная смесь для проведения ПЦР объемом 25 мкл содержала: 0,05 mM dNTPs, по 0,3 mM каждого праймера, 25 mM KCL, 60 mM Tris-HCL (pH 8,5), 0,1% Тритон X-100, 10 mM 2 - меркаптоэтанол, 1,5 mM MgCl₂, 1 единица Taq-полимеразы (SibEnzyme).

Реакция для пар праймеров проводилась в ДНК-амплификаторе «Термик» по программе:

- для маркера R2M1S-SCAR – 4 мин при 94°C, 35 циклов 30 с 94°C; 60 с 55°C; 60 с 72°C и финальная элонгация в течение 5 мин при 72°C;
- для маркера I-2/5 – 5 минут при 94°C, 35 циклов 30 с 94°C, 30 с 55°C, 30 с 72°C и финальная элонгация в течение 5 минут при 72°C;
- для маркера TMV-2262 – 5 мин при 94°C, 36 циклов 15 с 94°C, 25 с 55°C, 45 с 72°C и финальная элонгация в течение 5 мин при 72°C.

Результаты амплификации разделялись путем электрофореза в 2% агарозном геле и 8% полиакриламидном геле (ПААГ). После электрофореза гель анализировался в гель-документирующей системе Биорад (Gel Doc XR+).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для создания новых генотипов томата, обладающих генетической устойчивостью к

фитофторозу, фузариозному увяданию и вирусу табачной мозаики, были проанализированы F_2 гибридные комбинации. Отбор на наличие генов устойчивости *Ph3*, *I2*, *Tm2* с использованием молекулярных маркеров дал четкие воспроизводимые результаты (рис. 1, 2 и 3).

На рис. 1 показаны результаты визуализации продуктов ПЦР в полиакриламидном геле. По данному микросателлитному локусу R2M1S можно отметить, что образцы № 3, 5, 6, 7, 8, 10, 11 имеют схожий ДНК-профиль с устойчивым образцом Оттава-30. Анализ образцов под номерами 4 и 9 показал, что они не имеют гена (*Ph3*) устойчивости к фитофторозу.

На рис. 2 видно, что устойчивый к *Fusarium oxysporum* контрольный образец при амплификации дает размер продукта в 633 п. н., а восприимчивый характеризуется наличием двух аллелей в 760 п. н. и 693 п. н. Среди представленных на фореграмме образцов 11 имеют в своем генотипе аллель устойчивости, это образцы № 2–6 и № 10–15. В образцах под номерами 1, 7, 8, 9 наблюдается наличие трех специфических полос, что свидетельствует о гетерозиготном состоянии данных форм.

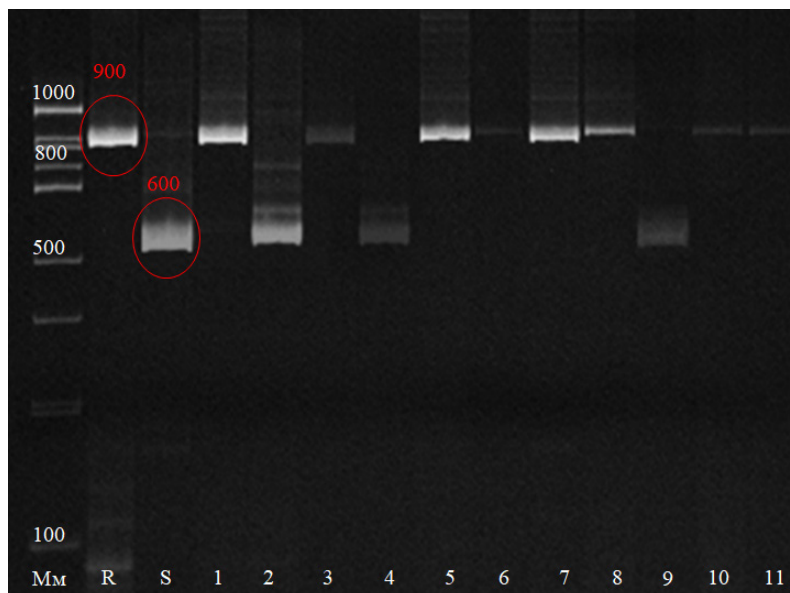


Рис. 1. Результаты ПЦР-анализа на наличие гена устойчивости к фитофторозу *Ph3* (в 8% ПААГ).
Примечание: Mm – маркер молекулярной массы; R – устойчивый контрольный образец (Отава-30);
S – восприимчивый контрольный образец; 1 – линия Ш 11-1 (7), 2 – Бок;
3–11 – растения поколения F₂ (Ш 11-1 × Бок-1)

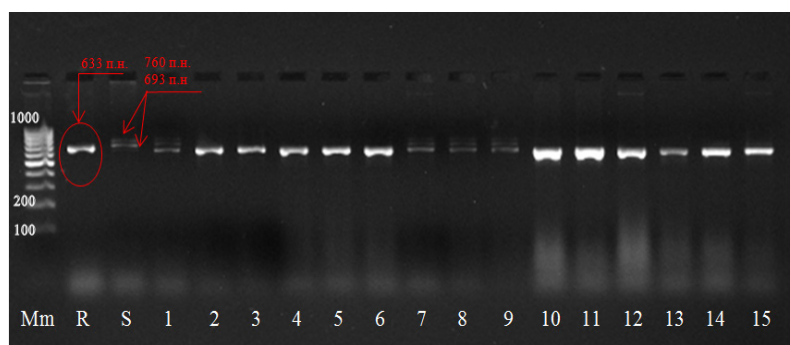


Рис. 2. Результаты ПЦР-анализа на наличие гена устойчивости к фузариозу *I2* (2% агарозный гель).
Примечание: Mm – маркер молекулярной массы; R – устойчивый контрольный образец; S – восприимчивый контрольный образец; 1 – линия Ш 11-1, 2 – Бок; 3–15 – растения поколения F₂ (Ш 11-1 × Бок-1).

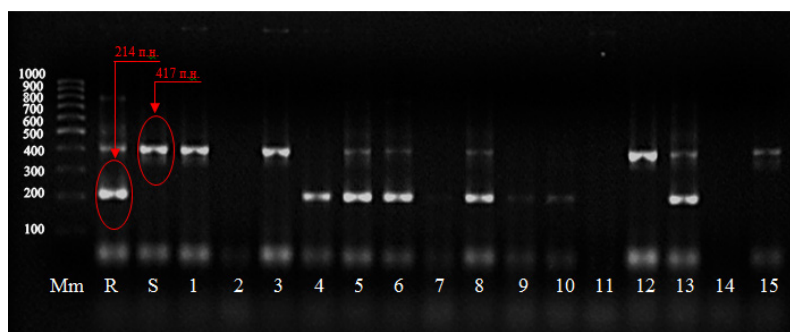


Рис. 3. Результаты ПЦР-анализа на наличие гена устойчивости к ВТМ *Tm2*² (2% агарозный гель).
Примечание: Mm – маркер молекулярной массы; R – устойчивый контрольный образец; S – восприимчивый контрольный образец; 1 – линия 2ф-2-17, 2 – Куб-1; 3–15 – растения поколения F₂ (2ф-2-17 × Куб-1)

Для праймерной пары TMV-2262 характерно наличие аллели устойчивости размером в 214 п. н. и аллели восприимчивости в 417 п. н. (рис. 3). Анализ 15 гибридных образцов позволил выделить формы, имеющие ген устойчивости *Tm2*. Это образцы под номерами 4–6, 8 и 13, которые при амплификации дают четкую полосу в 214 п. н. Гибридные комбинации 3, 12 и 15, имеющие в своем генотипе аллель

неустойчивости, характеризуются наличием продукта амплификации размером 417 п. н. (рис. 3).

Результаты молекулярно-генетических исследований представлены в виде таблицы. Устойчивые к болезням гомозиготы обозначались R, гетерозиготные формы – H, а неустойчивые гомозиготные формы – S (табл. 2).

Таблица 2. Результаты молекулярно-генетического анализа устойчивости образцов к болезням

№ п/п	Образец F ₂	I2	Tm2 ²	Ph3	№ п/п	Образец F ₂	I2	Tm2 ²	Ph3	№ п/п	Образец F ₂	I2	Tm2 ²	Ph3	№ п/п	Образец F ₂	I2	Tm2	Ph3
1	7ф 31-1(1) × С 2000-1	S	S	S	36	-/-36	S	S	S	71	-/-32	S	S	S	106	-/-33	S	S	S
2	-/-2	H	S	R	37	-/-37	S	S	S	72	-/-33	R	S	R	107	-/-34	S	H	R
3	-/-3	R	S	R	38	-/-38	R	S	R	73	-/-34	S	S	S	108	Ш 11-1×Бок-1	R	S	H
4	-/-4	R	S	S	39	-/-39	S	S	S	74	2ф-2-17×Куб-1	S	R	S	109		S	S	H
5	-/-5	S	S	S	40	14-2×Куб-1	S	S	S	75	-/-2	S	H	S	110	-/-3	R	R	H
6	-/-6	S	S	S	41	-/-2	S	S	S	76	-/-3	S	H	S	111	-/-4	S	S	H
7	-/-7	S	S	S	42	-/-3	S	S	S	77	-/-4	S	R	S	112	-/-5	S	H	H
8	-/-8	H	S	S	43	-/-4	S	S	S	78	-/-5	S	H	S	113	-/-6	R	S	H
9	-/-9	S	S	S	44	-/-5	S	S	S	79	-/-6	S	R	S	114	-/-7	R	S	H
10	-/-10	S	S	S	45	-/-6	S	S	R	80	-/-7	S	R	S	115	-/-8	S	R	H
11	-/-11	R	S	S	46	-/-7	S	S	S	81	-/-8	S	S	S	116	-/-9	H	R	H
12	-/-12	S	S	S	47	-/-8	S	S	S	82	-/-9	S	S	S	117	-/-10	S	S	H
13	-/-13	R	S	R	48	-/-9	S	S	R	83	-/-10	S	H	S	118	-/-11	H	S	H
14	-/-14	R	S	R	49	-/-10	S	S	R	84	-/-11	S	S	S	119	-/-12	S	H	H
15	-/-15	R	S	S	50	-/-11	S	S	S	85	-/-12	S	S	R	120	-/-13	R	S	H
16	-/-16	S	S	S	51	-/-12	S	S	S	86	-/-13	S	S	H	121	-/-14	R	S	H
17	-/-17	S	S	R	52	-/-13	S	S	S	87	-/-14	S	H	H	122	-/-15	R	S	H
18	-/-18	R	S	S	53	-/-14	S	S	S	88	-/-15	S	H	R	123	-/-16	R	R	S
19	-/-19	H	S	S	54	-/-15	S	S	S	89	-/-16	S	S	S	124	-/-17	S	S	S
20	-/-20	R	S	S	55	-/-16	S	S	S	90	-/-17	S	S	S	125	-/-18	H	S	R
21	-/-21	S	S	S	56	-/-17	S	S	S	91	-/-18	S	H	S	126	-/-19	S	S	S
22	-/-22	S	S	S	57	-/-18	S	S	S	92	-/-19	S	S	S	127	-/-20	R	S	H
23	-/-23	S	S	S	58	-/-19	S	S	S	93	-/-20	S	H	S	128	-/-21	R	H	R
24	-/-24	H	S	S	59	-/-20	R	S	R	94	-/-21	S	S	S	129	-/-22	R	H	S
25	-/-25	R	S	R	60	-/-21	H	S	S	95	-/-22	S	R	R	130	-/-23	S	S	S
26	-/-26	S	S	S	61	-/-22	S	S	S	96	-/-23	S	S	S	131	-/-24	S	S	S
27	-/-27	S	S	S	62	-/-23	S	S	S	97	-/-24	S	R	R	132	-/-26	S	S	S
28	-/-28	S	S	S	63	-/-24	S	S	S	98	-/-25	S	R	S	133	-/-27	H	S	R
29	-/-29	S	S	S	64	-/-25	R	S	R	99	-/-26	S	S	S	134	-/-28	S	S	S
30	-/-30	R	S	R	65	-/-26	R	S	R	100	-/-27	S	S	R	135	-/-29	R	S	S
31	-/-31	R	S	R	66	-/-27	S	S	S	101	-/-28	S	H	S	136	-/-30	S	S	R
32	-/-32	S	S	S	67	-/-28	R	S	R	102	-/-29	S	H	S	137	-/-31	S	S	S
33	-/-33	S	S	S	68	-/-29	R	S	R	103	-/-30	S	H	S	138	-/-32	S	S	S
34	-/-34	S	S	S	69	-/-30	S	S	S	104	-/-31	S	R	S	139	-/-33	R	S	S
35	-/-35	S	S	S	70	-/-31	S	S	S	105	-/-32	S	S	R	140	-/-34	R	S	S

На основе молекулярно-генетической оценки в исследуемых генотипах идентифицирован 31% резистентных форм от общего числа в проанализированной популяции. Было выделено 14 гибридных комбинаций, имеющих в своем генотипе сочетание двух генов устойчивости *I2* и *Ph3*, 7 из которых представляют образцы из гибридной популяции 7ф 31-1(1) × С 2000, 6 образцов 14-2 × Куб и 1 образец Ш11-1 × Бок. Также среди F₂ популяции 2ф-2-17 × Куб были выделены два образца, несущие ген устойчивости к фитофторозу и ВТМ. Гибридный образец Ш 11-1 × Бок-16 имеет в своем генетическом профиле специфичные аллели устойчивости к фузариозному увяданию и ВТМ. Образец Ш11-1 × Бок-3 имеет гомозиготные аллели устойчивости по генам *I2*, *Tm2* и гетерозиготен по гену *Ph3*. Указанные образцы были выбраны для дальнейшей селекционной работы. Также были отобраны образцы, которые несут в себе только гомозиготный генотип по генам устойчивости.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных молекулярно-генетических исследований установлено, что подобранные маркеры оказались эффективными при идентификации генов устойчивости к выбранной группе заболеваний. Праймерная пара R2M1S показывает четкий полиморфизм между контрастными по устойчивости к фитофторозу образцами томата.

Наличие гена *I-2* устойчивости к фузариозному увяданию удалось идентифицировать с помощью маркера I-2/5. Для определения наличия аллели устойчивости и восприимчивости была использована праймерная пара TMV-2262 с характерными размерами продуктов амплификации в 214 п.н. и 417 п.н. соответственно.

В результате скрининга F₂ сегрегирующей популяции растений томата были идентифицированы 42 растения, имеющие хотя бы один ген интереса, 16 из которых сочетали в себе как минимум два гена устойчивости.

Таким образом, благодаря применению метода молекулярного маркирования целевых генов в селекции томатов удалось выделить генотипы, которые представляют интерес для создания перспективного селекционного материала. Праймерные пары, применяемые при анализе данного материала, оказались эффективными и могут рекомендоваться для скрининга коллекций томата на наличие устойчивых форм к фитофторозу, фузариозу и вирусу табачной мозаики.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке государственной программы «Приоритет 2030». The work was carried out with the financial support of the state program «Prioritet 2030».

Список литературы

- Зайцева И. Е., Пугачева И. Г., Добродькин М. М., Бабак О. Г., Некрашевич Н. А., Кильчевский А. В. Оценка исходного материала томата методами классической и маркер-сопутствующей селекции для создания устойчивых к фитопатогенам гетерозисных гибридов // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 2. С. 135–139.
- Нековаль С.Н., Садовая А. Е., Беляева А. В. Новые источники устойчивости томата к наиболее вредоносным патогенам для условий Краснодарского края // Достижения науки и техники АПК. 2020. № 10. С. 67–71.
- Поликсенова В. Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений. Минск, 2008. 13 с.
- Хохлова А. А. Морфологическая оценка и репродуктивный потенциал при воздействии вируса ВТМ на F₁ гибриды растений томата, полученные при отдаленной гибридизации // Научный журнал КубГАУ. 2011. № 70. С. 1–10.
- Cirulli M., Alexander L. J. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato *Phytopathol.* 1996. № 56. pp. 1301–1304.
- El-Aziz A., Guirgis A., Roshdy T., Kheder M. Molecular and genetic studies on tomato mosaic virus resistance genes *Tm-1*, *Tm-2* and *Tm-22* in some local and exotic tomato accessions // *Egyptian Journal of Genetics and Cytology.* 2008. № 37. pp. 323–333.
- Foolad M. R., Panthee D. R. Critical Reviews. Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding // *Critical Reviews in Plant Sciences.* 2012. № 31. pp. 93–123. DOI: 10.1080/07352689.2011.616057
- Matic S., Paolo B., Chiara B., Biselli Ch., Orru L., Carneiro G. Am., Siciliano Il., Valé G., Gullino M. L., Spadaro D. Comparative transcriptome profiling conferring of resistance to *Fusarium oxysporum* infection between resistant and susceptible tomato // *BMC Genomics.* 2016. № 17. pp. 608. DOI: 10.1186/s12864-016-2925-6
- Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Research.* 1980. Vol. 10. pp. 4321–4325.
- Neha P., Shekhar S. S., Vati L. Chattopadhyay Molecular screening of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes for resistance alleles against important biotic stresses // *J. Appl Nat. Sci.* 2016. № 8(3). pp. 1654–1658. DOI: 10.31018/jans.v8i3.1018
- Scott J. W. Breeding for Resistance to Viral Pathogens // *Genetic Improvement of Solanaceous Crops.* 2007. Vol. 2. 658 p.
- Toshpulatov N., Tursunov O., Kodirov D. Environmentally friendly technology for the destruction of tobacco mosaic viruses (TMV) from selected species of plants // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.* 2020. Vol. 614. № 1. pp. 012133. DOI: 10.1088/1755-1315/614/1/012133
- Zhang C., Liu L., Wang X., Vossen J., Li G., Li T., Zheng Z., Gao J., Guo Y., Visser R.G. F., Li J., Bai Y., Du Y. The *Ph-3* gene from *Solanum pimpinellifolium* encodes CC-NBS-LRR protein conferring resistance to *Phytophthora infestans* // *Theoretical and Applied Genetics J.* 2014. № 127. pp. 1355. DOI: 10.1007/s00122-014-2303-1

Yu S.C., Zou Y.M. A co-dominant molecular marker of Fusarium wilt resistance gene I-2 derived from gene sequence in tomato // *Yi chuan Hereditas*. 2008. № 30(7). pp. 926–932. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00926

References

- Zaytseva I. Ye., Pugacheva I. G., Dobrod'kin M. M., Babak O. G., Nekrashevich N. A., Kilchevskiy A. V. Otsenka iskhodnogo materiala tomata metodami klassicheskoy i marker-soputstvuyushchey selektsii dlya sozdaniya ustoychivyykh k fitopatogenam geterozisnykh gibridov [Evaluation of the tomato source material by classical and marker-related selection methods to create heterotic hybrids resistant to phytopathogens] // *Vestnik Belorusskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii*, 2018, no. 2, pp. 135–139.
- Nekoval' S. N., Sadovaya A. Ye., Belyayeva A. V. Novyye istochniki ustoychivosti tomata k naiboleye vredonosnym patogenam dlya usloviy Krasnodarskogo kraya [New sources of tomato resistance to the most harmful pathogens for the conditions of the Krasnodar territory] // *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2020, no. 10, pp. 67–71.
- Poliksenova V.D. *Mikozy tomata: vzbuditeli zabolevaniy, ustoychivost' rasteniy* [Tomato mycoses: pathogens, plant resistance]. Minsk, 2008, 13 p.
- Khokhlova A. A. Morfologicheskaya otsenka i reproduktivnyy potentsial pri vozdeystvii virusa VTM na F1 gibridy rasteniy tomata, poluchennyye pri otdalennoy gibridizatsii [Morphological assessment and reproductive potential under the influence of the TMV virus on F1 hybrids of tomato plants obtained by remote hybridization] // *Nauchnyy zhurnal KubGAU*, 2011, no. 70, pp. 1–10.
- Cirulli M., Alexander L. J. A comparison of pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and different sources of resistance in tomato *Phytopathol.* 1996. № 56. pp. 1301–1304.
- El-Aziz A., Guirgis A., Roshdy T., Kheder M. Molecular and genetic studies on tomato mosaic virus resistance genes Tm-1, Tm-2 and Tm-22 in some local and exotic tomato accessions // *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*. 2008. № 37. pp. 323–333.
- Foolad M. R., Panthee D. R. Critical Reviews. Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding // *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2012. № 31. pp. 93–123. DOI: 10.1080/07352689.2011.616057
- Matic S., Paolo B., Chiara B., Biselli Ch., Orru L., Carneiro G. Am., Siciliano Il., Valé G., Gullino M. L., Spadaro D. Comparative transcriptome profiling conferring of resistance to *Fusarium oxysporum* infection between resistant and susceptible tomato // *BMC Genomics*. 2016. № 17. pp. 608. DOI: 10.1186/s12864-016-2925-6
- Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Research*. 1980. Vol. 10. pp. 4321–4325.
- Neha P., Shekhar S. S., Vati L. Chattopadhyay Molecular screening of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes for resistance alleles against important biotic stresses // *J. Appl Nat. Sci.* 2016. № 8(3). pp. 1654–1658. DOI: 10.31018/jans.v8i3.1018
- Scott J. W. Breeding for Resistance to Viral Pathogens // *Genetic Improvement of Solanaceous Crops*. 2007. Vol. 2. 658 p.
- Toshpulatov N., Tursunov O., Kodirov D. Environmentally friendly technology for the destruction of tobacco mosaic viruses (TMV) from selected species of plants // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, IOP Publishing. 2020. Vol. 614. № 1. pp. 012133. DOI: 10.1088/1755-1315/614/1/012133
- Zhang C., Liu L., Wang X., Vossen J., Li G., Li T., Zheng Z., Gao J., Guo Y., Visser R.G. F., Li J., Bai Y., Du Y. The Ph-3 gene from *Solanum pimpinellifolium* encodes CC-NBS-LRR protein conferring resistance to *Phytophthora infestans* // *Theoretical and Applied Genetics J.* 2014. № 127. pp. 1355. DOI: 10.1007/s00122-014-2303-1
- Yu S.C., Zou Y.M. A co-dominant molecular marker of Fusarium wilt resistance gene I-2 derived from gene sequence in tomato // *Yi chuan Hereditas*. 2008. № 30(7). pp. 926–932. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00926