

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

Научная статья
УДК 631.524.86:632.4
DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-196-208



Молекулярный скрининг образцов редких тыквенных культур на наличие маркеров генов и QTL, контролирующих устойчивость к мучнистой росе

Е. Н. Маркова^{1,2}, Ф. А. Беренсен¹, И. В. Гашкова¹, О. Ю. Антонова¹

¹ Федеральное исследовательское учреждение Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

² Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, Краснодарский край, Россия

Автор, ответственный за переписку: Елена Николаевна Маркова, markova.en@talantiuspeh.ru

Мучнистая роса (*Podosphaera xanthii* (Castagne) Braun & Shishkoff) – наиболее распространенное заболевание тыквенных культур, особенно в северо-западной и южной зонах России. Так, в Краснодарском крае, крупнейшем производителе кабачков, ущерб от мучнистой росы достигает 20–40%, что приводит к значительным экономическим потерям. Возможным решением данной проблемы является повышение резистентности растений-хозяев к патогенам за счет внесения генов устойчивости из диких или редких родственных культур, поскольку другие варианты, такие как применение фунгицидов, могут нарушить экосистемы и нанести вред живым организмам. Методы молекулярной селекции, такие как молекулярные маркеры, позволяют быстро идентифицировать необходимые фрагменты ДНК для выявления устойчивых и поражаемых форм растений-доноров. Предполагая наличие оригинальных генов устойчивости к мучнистой росе у редких тыквенных культур, мы провели молекулярный скрининг для 50 образцов люффы (*Luffa cylindrica* M. Roem.), 50 образцов лагенарии (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.) и 10 образцов *Cucumis* sp. из коллекции ВИР на наличие 15 маркеров генов устойчивости к мучнистой росе, известных для распространенных и редких тыквенных культур.

Ключевые слова: *Luffa cylindrica* M. Roem., *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl., *Podosphaera xanthii* (Castagne) Braun & Shishkoff, устойчивость, молекулярные маркеры

Благодарности: результаты получены при финансовой поддержке исследования, реализуемого в рамках государственной программы федеральной территории «Сириус» «Научно-технологическое развитие федеральной территории «Сириус»» (соглашение № 18-03 от 10.09.2024).

Авторы благодарят кандидата сельскохозяйственных наук Т. М. Пискунову за предоставление образцов кабачка, восприимчивых к мучнистой росе.

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

Для цитирования: Маркова Е.Н., Беренсен Ф.А., Гашкова И.В., Антонова О.Ю. Молекулярный скрининг образцов редких тыквенных культур на наличие маркеров генов и QTL, контролирующих устойчивость к мучнистой росе. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2024;185(4):196-208. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-196-208

IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-196-208

Molecular screening of rare cucurbit accessions for the presence of markers for genes and QTLs controlling resistance to powdery mildew

Elena N. Markova^{1,2}, Fedor A. Berensen¹, Irina V. Gashkova¹, Olga Yu. Antonova¹

¹N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

²Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, Krasnodar Territory, Russia

Corresponding author: Elena N. Markova, markova.en@talantiuspeh.ru

Powdery mildew (*Podosphaera xanthii* (Castagne) Braun & Shishkoff) is considered the most common disease of cucurbitaceous crops, especially in the northwestern and southern regions of Russia. For example, in Krasnodar Territory, the largest domestic squash producer, the damage from powdery mildew reaches 20–40%, which leads to significant economic losses. A possible solution to this problem is to increase the resistance of host plants to pathogens by introducing resistance genes from wild species or rare crop relatives, since other options, including the use of fungicides, can disrupt ecosystems and harm living organisms. Marker-assisted molecular breeding techniques make it possible to quickly identify necessary DNA fragments in order to find resistant and susceptible forms of donor plants. Assuming the presence of original genes for resistance to powdery mildew in rare cucurbits, we conducted molecular screening of 50 sponge gourd (*Luffa cylindrica* M. Roem.), 50 bottle gourd (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.), and 10 *Cucumis* sp. accessions from the VIR collection for the presence of 15 markers of powdery mildew resistance genes known for widespread and rare cucurbitaceous crops, and clarified the effectiveness of 3 molecular markers.

Keywords: *Luffa cylindrica* M. Roem., *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl., *Podosphaera xanthii* (Castagne) Braun & Shishkoff, resistance, molecular markers

Acknowledgments: the results were obtained with financial support from the state program for the Sirius Federal Territory “Scientific and technological development of the Sirius Federal Territory” (Agreement No. 18-03 dated Sept. 10, 2024).

The authors are grateful to Dr. T. M. Piskunova for making available cucurbit accessions susceptible to powdery mildew from the VIR collection.

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

For citation: Markova E.N., Berensen F.A., Gashkova I.V., Antonova O.Yu. Molecular screening of rare cucurbit accessions for the presence of markers for genes and QTLs controlling resistance to powdery mildew. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2024;185(4):196-208. DOI: 10.30901/2227-8834-2024-4-196-208

Введение

Представители семейства Cucurbitaceae Juss. (Тыквенные) являются одними из наиболее популярных овощных культур в мировом сельском хозяйстве, поскольку их плоды обладают высокой питательной ценностью, способны к долгосрочному хранению и удобны при транспортировке. В 2020 г., по данным ФАО (<https://www.fao.org/statistics/en>), Российская Федерация занимала третье место в мире после Китая и Индии по валовому производству данных культур. При этом, однако, многие виды, широко возделываемые в странах Азии, мало культивируются в России, где их относят к редким тыквенным культурам. Возделывание таких видов, как люффа цилиндрическая (*Luffa cylindrica* M. Roem.), лагенария обыкновенная (*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.), *Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn., трихозант змеевидный (*Trichosanthes cucumerina* L.), дикие виды рода *Cucumis* L., ограничиваются различными лимитирующими абиотическими факторами (влажность, температура), а также историческими культурными предпочтениями населения. На данный момент из имеющегося многообразия видов семейства Cucurbitaceae в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации включено всего лишь 5 сортов момордики и по 2 сорта лагенарии и бенинказы, в то время как сортов тыквы, кабачка, огурца и арбуза суммарно зарегистрировано более тысячи (State Register..., 2019).

Некоторые примеры выращивания таких культур в России все же имеются. На южном черноморском побережье еще с советских времен культивируется люффа цилиндрическая – диплоидное растение ($2n = 2x = 26$) из трибы Benincasae (Rai et al., 2023), плоды и семена которого используют в пищевой, косметической и других отраслях промышленности. Помимо использования в пищу, губчатая часть плода люффы как органический и легко перерабатываемый материал с пористой структурой находит широкое применение при изготовлении упаковочных материалов, звукоизоляционных покрытий, губок для ванны и мытья посуды, адсорбентов для удаления тяжелых металлов (никеля, свинца, хрома, меди) из сточных вод (Demir et al., 2008). Также масла люффы могут быть использованы как вариант биотоплива для двигателей внутреннего сгорания (Vamgboye, Oniya, 2012).

Другая культура, поддерживаемая на Адлерской опытной станции ВИР, – лагенария обыкновенная, также называемая горлянкой, или бутылочной тыквой. Данный вид имеет число хромосом, равное 22 (Singh, 1990), при этом в популяции растения зачастую гетерозиготны и весьма изменчивы (<https://prosea.prota4u.org>). Лагенарию часто используют в качестве подвоя для других тыквенных культур, например арбуза (Karaca et al., 2013). Такие подвои обеспечивают быстрый рост и высокую устойчивость к абиотическим факторам и некоторым заболеваниям, например к вирусу желтой мозаики цуккини (Dhillon et al., 2018).

Урожайность тыквенных, как и других культивируемых растений, сильно зависит от поражения различными патогенами. Одним из наиболее распространенных грибковых заболеваний является мучнистая роса, вызываемая микроорганизмами *Podospheera xanthii* (Schltld.) U. Braun & S. Takam. (syn. *Sphaerotheca fuliginea* Poll.) и *Erysiphe cichoracearum* DC. (syn. *Golovinomyces cichoracearum* DC.). Мучнистая роса – один из самых агрессивных патогенов бахчевых культур и в настоящий момент считается

наиболее распространенным заболеванием тыквы, кабачка и патиссона в открытом грунте в Российской Федерации, прежде всего в северо-западной и южной зонах (Ling, Levi, 2007). Все виды мучнистой росы относятся к облигатным фитопатогенам, которые растут на поверхности листьев хозяина и получают питательные вещества из клеток мезофилла через специализированные структуры – гаустории. Характерной особенностью патогена является белый налет на верхней поверхности листьев, спороношение может встречаться также на стеблях и плодах. В первую очередь болезнь развивается на нижнем ярусе листьев, постепенно переходя на более молодые. Пораженные листья буреют и засыхают. Источником инфекции в новом сезоне служат зимующие на растительных остатках клейстотеции (плодовые тела) (Vavivoda et al., 2017).

Применение фунгицидов и других агрохимикатов не всегда эффективно, поскольку патоген способен развивать устойчивость к ним (McGrath, 2001); кроме того, фунгициды нарушают естественные почвенные экосистемы и оказывают негативное влияние на живые организмы. Поэтому необходимо повышать резистентность самих растений за счет интродукции в них генов устойчивости.

Работы в области генетики резистентности тыквенных к мучнистой росе и молекулярного маркирования R-генов и QTL (Quantitative Trait Loci) устойчивости ведутся на протяжении длительного времени. Для разных видов широко распространенных тыквенных культур разработано значительное количество маркеров различных типов, которые активно применяются в селекции. В случае интрогрессии ценного гена в геномы других видов или при высокой степени синтении один маркер может быть использован в отношении сразу нескольких растительных культур.

Так, локус, связанный с устойчивостью к мучнистой росе у кабачка (*Cucurbita pepo* L.), интрогрессировали от дикого вида *C. okeechobeensis* subsp. *martinezii* (Small) L.H. Bailey через вид-мостик *C. moschata* Duch. (Contin, Munger, 1977). Было показано, что резистентность у полученных линий с интрогрессией обеспечивается одним геном в группе сцепления 10, который получил название *Pm-0*. В дальнейшем на основе этих линий создали коммерческие сорта *C. pepo*, и ген *Pm-0* получил достаточно широкое распространение в современном сорimente кабачка и патиссона (Contin, Munger, 1977; Holdsworth et al., 2016; Berensen et al., 2023). Для его идентификации разработаны два CAPS-маркера. Основной внутригенный маркер NBS_S9_1495924/HaeIII локализован в области NBS-LRR, дополнительный маркер S9_1539675/MspI проявляет полную косегрегацию с признаком устойчивости. Показано, что маркеры пригодны для молекулярного скрининга коллекций: одновременное присутствие маркеров NBS_S9_1495924/HaeIII и S9_1539675/MspI хорошо коррелировало с устойчивостью к мучнистой росе.

У мускатной тыквы *C. moschata* информативный маркер создан в процессе полногеномного поиска ассоциаций GWAS (Alavilli et al., 2022). При секвенировании 407 контрастных образцов выявили новый ген-кандидат *SmAP2/ERF*, ассоциированный с устойчивостью к мучнистой росе, после чего с помощью технологии dCAPS-маркирования (dCAPS = Derived Cleaved Amplified Polymorphic Sequences) разработали маркер SmAP2/ERF-PstI, эффективно различавший устойчивые и поражаемые формы. Другая группа исследователей на основе

SNP, выявленных методом генотипирования с помощью секвенирования (GBS) у 204 образцов гибридов мускатной тыквы, картировала QTL устойчивости на 10-й группе сцепления и разработала 7 SCAR-маркеров, показавших свою эффективность в молекулярном скрининге (Park et al., 2020). Следует отметить, что ни одна из групп авторов не сделала попытки связать выявленные локусы устойчивости с описанными ранее у мускатной тыквы генами *pm-1* и *pm-2* (Adeniji, Coyne, 1983).

Для такой экономически значимой культуры, как огурец обыкновенный (*Cucumis sativus* L.), также существуют маркеры, позволяющие проводить отбор на устойчивость к мучнистой росе. В своем исследовании М. В. Анаржан с соавторами (Anarjan et al., 2021) разработали два маркера для определения восприимчивости или устойчивости корейских линий огурца: CAPS-маркер CsLRR-RPK2 для гена *CsGy5G015660* и InDel-маркер *CsaMLO8* для гена *Csa5G623470*. Первый из них демонстрировал более сильную корреляцию с фенотипом, устойчивым к болезням, – 84%. В то же время маркер *CsaMLO8* показал 70% соответствия фенотипа и генотипа.

На основе AFLP-анализа генома линии дыни (*Cucumis melo* L.) TGR-1551, содержащего доминантный ген устойчивости к трем расам мучнистой росы, распространенным в южной Европе, F. Yuste-Lisbona с коллегами (Yuste-Lisbona et al., 2011) выделили ассоциированный с устойчивостью фрагмент E31M66-T3 и связанный с восприимчивостью фрагмент E31M66-B1. Секвенирование этих двух аллельных AFLP-фрагментов позволило создать на основе выявленного полиморфизма SCAR-маркер PM6-SCAR, пригодный для молекулярного скрининга.

В геноме арбуза (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) на второй хромосоме был идентифицирован кластер из 8 генов устойчивости (*Cla019831–Cla019863*), из которых, однако, только три гена имели отличия последовательностей у устойчивого и восприимчивого родителя. В последовательности одного из главных кандидатов, гена *Cla019831*, у контрастных форм обнаружили полиморфизм по наличию/отсутствию рестрикционного сайта TaqI, что позволило авторам разработать CAPS-маркер (Kim et al., 2015). Поскольку арбуз является близким родственником *Lagenaria siceraria* (Xie et al., 2019; Rehman et al., 2022), данный маркер представляет большой интерес для проведения молекулярного скрининга у редких тыквенных культур.

Ввиду большого количества данных для распространенных видов тыквенных культур, для них гораздо легче найти уже разработанные и верифицированные маркеры устойчивости к мучнистой росе, чем для редких представителей данного семейства. Однако у люффы и лагенарии такие маркеры все же известны – соответственно M5349 (Zhaoqing Quanfa Agricultural Development Co Ltd., 2021) и GPDSATG_CTC75 (Wang et al., 2011).

Следует отметить, что все эти маркеры получены для генов устойчивости к *P. xanthii*, вероятно, ввиду ее более широкого распространения по сравнению со вторым патогенным видом.

В данной работе все вышеперечисленные маркеры использованы для молекулярного скрининга образцов видов *Luffa cylindrica*, *Lagenaria siceraria* и *Cucumis* sp. из коллекции редких тыквенных культур ВИР. Суммарно было апробировано 15 молекулярных маркеров, созданных для 5 распространенных и 2 редких тыквенных культур; данные скрининга сопоставили с результатами фенотипической оценки на наличие устойчивости образцов к мучнистой росе в условиях влажных субтропиков

на Адлерской опытной станции – филиале Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР).

Материалы и методы

Растительный материал

Экспериментальную выборку составили образцы трех родов редких тыквенных культур из коллекции отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ВИР (табл. 1): 50 образцов *Luffa cylindrica*, 50 образцов *Lagenaria siceraria* и 10 образцов видов рода *Cucumis*. Образцы люффы цилиндрической представлены местными сортами, полученными по обмену с научно-исследовательскими учреждениями или в результате экспедиционных сборов с 1928 по 1984 г. В выборке присутствуют образцы различного географического происхождения: европейские страны – 7 образцов, страны Африки – 9 образцов, Средняя Азия – 5 образцов, Индокитай – 13 образцов, Восточная Азия – 14 образцов и 2 образца из Латинской Америки (Венесуэла). Изменчивость морфологических признаков растений слабая, единственный контрастный признак – белая окраска семян (обычно семена черной окраски) – выявлен у образца к-629 из Кыргызстана.

У образцов лагенарии (местный материал 1928–2019 гг. из стран Европы – 5 образцов, Африки – 11 образцов, Средней Азии – 9 образцов, Индокитая – 15 образцов, Восточной Азии – 10 образцов) наблюдается сильная варибельность признака «форма плода». Диапазон изменчивости формы плода – от мелкоплодных «погремушек» до длинноплодных цилиндрических и пальцевидных плодов. Семена лагенарии имеют оригинальную форму и варьируют по размеру и окраске (от белой до серо-коричневой). Образцы рода *Cucumis* – диплоидные растения $2n = 24$ (материал 1959–1985 гг. из Кении, ЮАР, Ганы и Франции) – характеризуются мелкими овальными или округлыми плодами с различной густотой опушения. Семена белые или кремовые, длиной 2–6 мм.

Также в исследовании полевой устойчивости образцов к мучнистой росе в условиях субтропического климата в качестве контроля использовали 10 образцов, поражаемых мучнистой росой, а для молекулярного скрининга – образцы кабачка, у которых ранее (Berensen et al., 2023) было показано наличие маркеров гена *Pm-0* (табл. 2).

Фитопатологический анализ

Высадка опытных растений производилась на территории Адлерской опытной станции ВИР, расположенной в субтропическом климатическом поясе Российской Федерации. Рассадку тыквенных культур высаживали в грядки с определенными интервалами между растениями (схема посадки – 80 × 80 см для кабачков, 150 × 80 см – для тыкв и 100 × 80 см для остальных культур), чтобы обеспечить им достаточное пространство для роста и развития.

В течение летне-осеннего сезона 2023 г. провели оценку образцов на наличие поражения мучнистой росой в условиях открытого грунта в период массового распространения болезни (конец сентября – начало октября) согласно методике ВИР (Piskunova, 2020).

На территории посадок осматривали каждое растение и оценивали степень поражения в баллах по шкале: 0 – поражение отсутствует – иммунитет; 1 балл – слабое

Таблица 1. Образцы редких тыквенных культур, включенных в исследование

Table 1. Accessions of rare cucurbitaceous crops used in the study

Вид (сокращение для подписей на рисунках) / Species (abbreviation for designations in the figures)	Число изученных образцов / Number of accessions studied	№ по каталогу ВИР (к-...) / VIR catalogue No. (k-...)
<i>Luffa cylindrica</i> (Lc)	50	127, 150, 162, 286, 448, 462, 513, 515, 517, 518, 519, 520, 521, 524, 527, 529, 530, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 547, 548, 550, 551, 552, 558, 559, 560, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 589, 590, 611, 613, 619, 621, 629, 630, 638, 639
<i>Lagenaria siceraria</i> (Ls)	50	819, 848, 878, 976, 985, 986, 988, 989, 991, 993, 1000, 1003, 1067, 1068, 1072, 1083, 1088, 1091, 1118, 1125, 1148, 1150, 1177, 1181, 1205, 1208, 1213, 1219, 1223, 1224, 1228, 1231, 1237, 1238, 1239, 1240, 1241, 1246, 1252, 1253, 1264, 1265, 1266, 1267, 1268, 1271, 1273, 1274, 1275, 1276
<i>Cucumis anguria</i> L. (C. sp)	2	5, 40
<i>C. dispanceus</i> L. (C. sp)	1	3
<i>C. longipes</i> L. (C. sp)	1	17
<i>C. miriocarpus</i> L. (C. sp)	1	11
<i>C. prohpeterum</i> L. (C. sp)	1	12
<i>C. saelinexi</i> L. (C. sp)	1	15
<i>C. zeyheri</i> L. (C. sp)	1	16
<i>Cucumis</i> sp. (C. sp)	2	63, 80
ИТОГО:	110	

Таблица 2. Контрольные образцы, задействованные в исследовании

Table 2. Control accessions used in the study

Вид (сокращение для подписей на рисунках) / Species (abbreviation for designations in the figures)	Число образцов / Number of accessions studied	№ по каталогу ВИР (к-...) / VIR catalogue No. (k-...)
Контроли для фитопатологической оценки		
<i>Cucurbita maxima</i> (Cm)	1	4479
<i>C. pepo</i> (Cp)	9	5060; 5484; 5485; 5524; 5525; 5529; 5530; 5531; 5602
Контроли для проведения молекулярного скрининга		
<i>C. pepo</i> (Cp)	2	5522; 5611

поражение (менее 10% поверхности листьев); 2 балла – среднее поражение (до 25% поверхности листьев); 3 балла – сильное поражение (до 50% поверхности листьев); 4 балла – очень сильное поражение, вызывающее гибель растений.

Средний балл поражения образца (B) вычисляли по формуле: $\Sigma (a \times b) / N$, где $\Sigma (a \times b)$ – сумма произведений числа пораженных растений на соответствующий балл поражения, N – число проанализированных растений.

Степень развития болезни (C) определяли по формуле: $C = \Sigma (a \times b) \times 100 / N \times 4$, где 4 – максимальный балл поражения.

По степени развития болезни образцы разделяли по типам устойчивости, используя шкалу: менее 10% – очень высокая; 10–25% – высокая; 26–50% – средняя; 51–

75% – низкая; более 75% – очень низкая (Piskunova, 2020).

Выделение ДНК

Экстракцию ДНК проводили как из индивидуальных растений, так и способом объединенных (bulk) проб. Объединенная проба включала либо материал нескольких недельных проростков (до 10 растений на образец), либо навеску семян. Размер навески зависел от размера семян: использовали до 25 семян в случае *Luffa cylindrica*, до 15 семян в случае *Lagenaria siceraria* и до 50 семян в случае видов *Cucumis*.

В работе задействовали два метода выделения ДНК: модификацию SDS-метода (Dorokhov, Klocke, 1997) при выделении из семян и оригинальную модификацию СТАВ-

метода для листового материала (Antonova et al., 2020). Использование двух методов объяснялось тем, что метод СТАВ-экстракции не позволял получать ДНК хорошего качества при выделении из семян.

Концентрацию и качество полученной ДНК оценивали спектрофотометрическим методом на приборе Implen NanoPhotometer N60 и путем электрофореза в 1-процентном агарозном геле (с использованием 1 × ТВЕ при напряжении 5 В/см).

Молекулярный скрининг

Для проведения молекулярного скрининга образцов редких тыквенных культур отобрали из литературных источников различные маркеры генов устойчивости к мучнистой росе, разработанные для люффы и лагенарии, а также для широко распространенных тыквенных – огурца, кабачка, тыквы, дыни. Перечень маркеров представлен в таблице 3.

ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 40 нг геномной ДНК, 1 × реакционный буфер («Диалат», Москва, <http://dialat.ru/>), 2,5 мМ MgCl₂, 0,5 мМ каждого из dNTPs, по 0,20 мкМ прямого и обратного праймеров и 1 ед. Таq-полимеразы («Диалат», Москва, <http://dialat.ru/>). Программы ПЦР соответствовали рекомендованным авторами праймеров.

Рестрикцию проводили в 35 мкл реакционной смеси в течение 8 часов в условиях, рекомендованных фирмой-изготовителем ферментов («СибЭнзим», Новосибирск, <https://sibenzyme.com/>).

Разделение продуктов амплификации и рестрикции фрагментов осуществляли методом электрофореза в 2-процентных агарозных гелях с использованием 1 × ТВЕ и с напряжением в камере 5 В/см на протяжении 80 минут. Гели окрашивали бромистым этидием. Для визуализации в проходящем УФ-свете использовали систему Gel-Doc XR (Bio-Rad, США).

Результаты

Фитопатологическая оценка устойчивости образцов в условиях открытого грунта

В 2023 г. все 110 образцов экспериментальной выборки редких тыквенных культур высадили на территории Адлерской опытной станции ВИР для изучения их устойчивости к мучнистой росе в условиях влажных субтропиков. Одновременно для контроля высадили 10 образцов, сильно поражаемых мучнистой росой (по результатам многолетних наблюдений ведущего научного сотрудника отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ВИР Т. М. Пискуновой). Каждый образец был представлен 4–5 растениями. К сожалению, из-за крайне неблагоприятных метеорологических условий на опытном участке (аномальные ливни и град в начале июля 2023 г. в Адлерском районе г. Сочи) значительное число образцов было повреждено и удалено из выборки ввиду их нежизнеспособности. Всего удалось проанализировать 50 образцов, в том числе 8 контрольных.

Фитопатологическую оценку по стандартной методике ВИР (Piskunova, 2020) провели в конце сентября в период максимального распространения инфекции. Все 8 контрольных образцов тыквы и кабачка были сильно поражены мучнистой росой (средний балл – 3,68 ± 0,08), что свидетельствовало о наличии высокого инфекционного фона на опытном участке. При этом все 42 изу-

ченных образца видов *Lagenaria siceraria* и *Luffa cylindrica* мучнистой росой практически не поражались (рис. 1).

Молекулярный скрининг с использованием ДНК-маркеров генов устойчивости к мучнистой росе

По результатам анализа литературы мы подобрали и апробировали для редких тыквенных культур 13 молекулярных маркеров генов устойчивости к мучнистой росе, разработанных для традиционных тыквенных культур, и 2 маркера собственно для *Lagenaria siceraria* и *Luffa cylindrica* (табл. 3). Скрининг провели для всех 110 образцов экспериментальной выборки (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 1, Table S1)¹; также в него включили контрольные образцы распространенных тыквенных культур (кабачки и тыквы) – 10 поражаемых мучнистой росой и 2 устойчивых, имеющих маркеры гена *Pm-0*.

Маркеры, разработанные для *Cucumis sativus*

Мы использовали 2 маркера, разработанные для идентификации генов устойчивости у огурца: CAPS-маркер CsLRR-RPK2/HinI (ген *CsLRR-RPK2*) и SCAR-маркер CsaMLO8 (ген *CsaMLO8*, контролирующий рецессивную устойчивость к мучнистой росе) (Anarjan et al., 2021). Примерно 70% образцов выборки давало амплификационные продукты, однако для обоих маркеров были выявлены только фрагменты, ассоциированные с восприимчивостью к мучнистой росе, размером соответственно 324 пн и 405 пн (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 2, Fig. S1)².

Маркеры гена *Pm-0*, известные у кабачка и мускатной тыквы

Проведен скрининг с маркерами гена *Pm-0*, контролирующего устойчивость к мучнистой росе у кабачка и мускатной тыквы. Мы использовали два CAPS-маркера этого гена, из которых маркер NBS_S9_1495924/HaeIII является внутригенным и характеризуется авторами как «основной», а маркер S9_1539675/MspI тесно сцеплен с геном и рассматривается как дополнительный. В скрининг привлекли два контрольных образца, у которых присутствие этих маркеров было показано ранее (Berensen et al., 2023).

Действительно, на контрольных образцах кабачка мы смогли определить диагностические фрагменты маркеров гена *Pm-0*. Однако большинство образцов редких тыквенных культур не генерировали ПЦР-продукты, еще у части были отмечены слабые продукты амплификации, не совпадающие по размеру с ожидаемыми и не поддающиеся воздействию рестриктаз (Electronic Supplementary Materials, Suppl. 3, Fig. S2)³.

¹ Приложение 1, табл. S1, представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 1, Table S1. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208>

² Приложение 2, рис. S1, представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 2, Fig. S1. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208>

³ Приложение 3, рис. S2, представлено в онлайн-формате. Электронная версия статьи: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208> / Electronic Supplementary Materials, Suppl. 3, Fig. S2. The online version of this article: <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-4-196-208>

Таблица 3. Апробированные в исследовании маркеры генов устойчивости к мучнистой росе у различных тыквенных культур
Table 3. Markers for powdery mildew resistance genes in various cucurbitaceous crops tested in the study

Маркер / Marker	Тип маркера / Marker type	Последовательности праймеров * / Primer sequences	T _m °C	Рестриктаза / Restriction enzyme	Размер (пн) ожидаемых фрагментов (R/S) / Size (bp) of expected fragments (R/S)	Литературный источник / Reference source
Огурец <i>Cucumis sativus</i>						
CsLRR-RPK2	dCAPS	F: gcaacaagtccaatggaccac	60	HinfI	224+100/324	Anarjan et al., 2021
		R: gaatctctccagccaattgtttcc				
CsaMLO8	InDel	F: tatggctgcctttcatctcct	60	-	1854/405	Anarjan et al., 2021
		R: tccaagcaagaaggaagcaagc				
Кабачок <i>Cucurbita pepo</i> subsp. <i>pepo</i>						
NBS_S9_1495924	CAPS	F: tcaacggatatctccaccaag	58	HaeIII	759+134/ 443+316+134	Holdsworth et al., 2016
		R: tacagagacctggatgagat				
S9_1539675	CAPS	F: acttagagaatggttcgaccctctg	60	HpaII	550+300/850	Holdsworth et al., 2016
		R: ctggagagctgtaagtaagatca				
Мускатная тыква <i>Cucurbita moschata</i>						
PMR1	InDel	F: tcgttttctctcttgcacc	48	-	419/334	Park et al., 2020
		R: aaacaggccaagtgccaccag				
PMR2	InDel	F: caagtaagcacaacaagttcatic	52	-	360/178	Park et al., 2020
		R: agcacaatcaagaagagttcg				
PMR3	InDel	F: ccgattcaacctataagctttt	64	-	275/296	Park et al., 2020
		R: agcacaatcaagaagagttcg				
PMR4	InDel	F: gttttgattggaggaggttatg	54	-	420/381	Park et al., 2020
		R: ttctcggggaagctatagattag				

Таблица 3. Окончание
Table 3. The end

Маркер / Marker	Тип маркера / Marker type	Последовательности праймеров * / Primer sequences	T _m , °C	Рестриктаза / Restriction enzyme	Размер (пн) ожидаемых фрагментов (R/S) / Size (bp) of expected fragments (R/S)	Литературный источник / Reference source
Мускатная тыква <i>Cucurbita moschata</i>						
PMR5	InDel	F: ctgactcaagcaagatttagacc	53	-	295/353	Park et al., 2020
		R: gatcaatgccacagatttcgag				
PMR6	InDel	F: cggttatggttaccsaatcaggt	53	-	324/360	Park et al., 2020
		R: gatcgataaaccsaccsaccgac				
CmoAP2/ERF	dCAPS	F: caattcaggcggcaggcgggtgctg	56→48	PstI	180/200	Alavilli et al., 2022
		R: attattggcctccattact				
Дыня <i>Cucumis melo</i>						
PM6-SCAR	SCAR	F: gaattcaaaccaaatcttcg	59	-	281/246	Yuste-Lisbona et al., 2011
		R: cgagaatcagagaggctcgt				
Арбуз <i>Citrullus lanatus</i>						
Cla019831	CAPS	F: cttttgctgcatgtgcat	60→55	TaqI	527/334+223	Kim et al., 2015
		R: ggatgcaaggagctgttc				
Лагенария <i>Lagenaria siceraria</i>						
GPDSATG_CTС75	SCAR	F: catgaaagaaaatcggcttgg	56	-	75/105	Wang et al., 2011
		R: taactccagcactccctccc				
Люффа <i>Luffa cylindrica</i>						
M5349	SCAR	F: ttgaggattacttccatc	46	-	151/195	Zhaoqing Quanfa Agricultural Development Co Ltd., 2021
		R: gcattctgaaatctaggt				

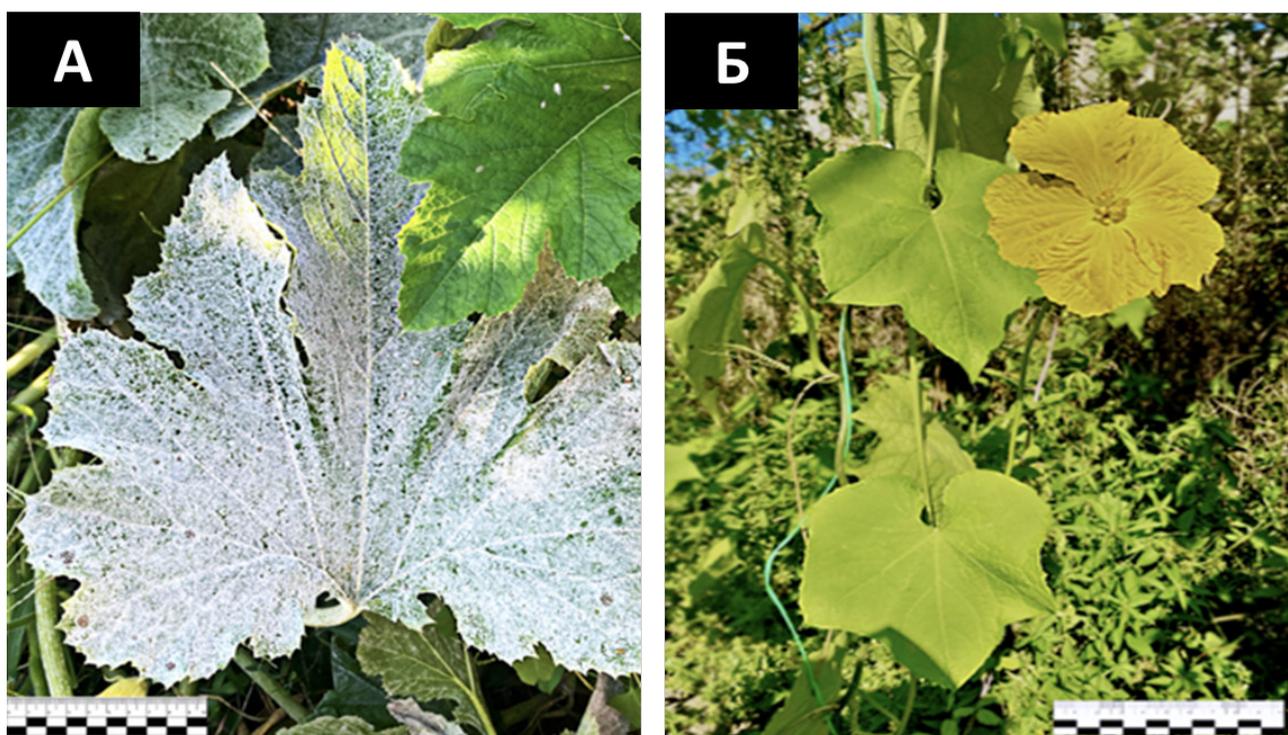


Рис. 1. А – листовая пластинка кабачка, пораженного мучнистой росой, образец к-5602; Б – листовые пластинки образца *Luffa cylindrica* к-558, устойчивого к мучнистой росе

Fig. 1. А – the leaf blade of a squash plant affected by powdery mildew, accession k-5602; Б – the leaf blades of *Luffa cylindrica*, accession k-558: an example of resistance to powdery mildew

Маркеры QTL и генов устойчивости мускатной тыквы и дыни

В скрининге участвовало 6 SCAR-маркеров (PMR1–PMR6), разработанных для картированного на 10-й хромосоме QTL устойчивости мускатной тыквы (Park et al., 2020), и CAPS-маркер гена *StoAP2/ERF*, картированного в области ~400 пн между нуклеотидами 7562022~7981972 в хромосоме 3 (Alavilli et al., 2022).

При скрининге со SCAR-маркерами PMR1–PMR6 только для небольшого числа образцов выборки удалось получить ПЦП-продукты, но их размеры в большинстве случаев не согласовывались с литературными данными, то есть они не могли считаться диагностическими. В случае маркера PMR1 часть образцов генерировала фрагменты, ассоциированные с восприимчивостью к мучнистой росе (см. Suppl. 1, Table S1). Не было найдено ни одного образца с диагностическими фрагментами устойчивости, которые, согласно литературным данным, должны составлять примерно 420 пн. Аналогично в изученной выборке не было выявлено ни одного образца с диагностическими фрагментами SCAR-маркера PM6, разработанного F. Yuste-Lisbona с соавторами (Yuste-Lisbona et al., 2011) для дыни *Cucumis melo*.

Только в случае маркера *StoAP2/ERF-dCAPS/PstI* обнаружен один образец люффы цилиндрической к-513, генерировавший рестрикционный фрагмент, ассоциированный с устойчивостью (рис. 2). Еще у нескольких образцов нашли фрагменты, связанные с восприимчивостью. Однако молекулярные данные у этих образцов не совпадали с оценкой их устойчивости к мучнистой росе в полевых условиях. Более того, фрагмент, который, согласно авторам, должен быть ассоциирован с устойчивостью, присутствовал также и у контрольного поражаемого образца тыквы (*Cucurbita maxima*) к-4479.

Маркер, разработанный для детекции генов устойчивости у арбуза

CAPS-маркер Cla019831/TaqI разработали К. Н. Kim с соавторами (Kim et al., 2015) для детекции гена устойчивости к мучнистой росе *Cla019831* у арбуза. У поражаемых образцов ПЦП-продукт должен расщепляться ферментом TaqI, у устойчивых образцов рестрикции не происходит. В нашем случае ПЦП-продукты с праймерами Cla019831 образовывались только у единичных образцов одного вида – *Lagenaria siceraria*. При этом все они не разрезались TaqI, то есть соответствовали маркеру функциональной аллели гена *Cla019831* (рис. 3, А). Все образцы, у которых присутствовали маркерные фрагменты, при фитопатологической оценке проявили себя как устойчивые к мучнистой росе.

Таким образом, маркер Cla019831/TaqI можно предварительно оценить как эффективный для образцов лагенарии, однако для других тыквенных культур он не подходит. Следует отметить, что виды *Lagenaria siceraria* и *Citrullus lanatus* действительно эволюционно близки и на кластерах, построенных по результатам анализа различных нуклеотидных и белковых последовательностей, они располагаются совместно (Chomicki, Renner, 2015; Xie et al., 2019; Ma et al., 2020; Rehman et al., 2022).

Маркеры генов устойчивости, разработанные для редких тыквенных культур

SCAR-маркер M5349, разработанный китайскими исследователями (Zhaoqing Quanfa Agricultural Development Co Ltd., 2021) для анализа QTL устойчивости у *Luffa cylindrica*, при скрининге экспериментальной выборки выявили только у нескольких образцов люффы (см. Suppl. 1, Table S1). При этом образцы с маркерными фрагментами устойчивости (~151 пн) (рис. 3, Б) показали наличие

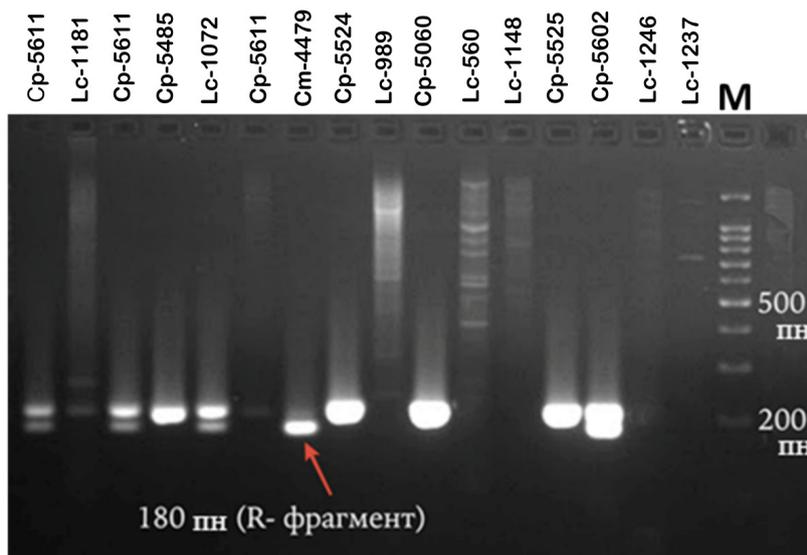


Рис. 2. Результаты апробации маркера *CmoAP2/ERF-dCAPS/PstI*, разработанного для дыни, с ДНК-пробами образцов редких тыквенных культур. Фрагменты, ассоциированные, по литературным данным, с устойчивостью, обозначены как «R-фрагменты» (M – маркер молекулярного веса 100 bp+ («СибЭнзим»); сокращения видовых названий даны в соответствии с таблицами 1 и 2)

Fig. 2. Test results for the marker *CmoAP2/ERF-dCAPS/PstI* (developed for melon) on DNA samples of rare cucurbits. Fragments associated with resistance according to published sources are designated as R-fragments (R-фрагменты) (M – molecular weight marker 100 bp+ (SibEnzyme); the abbreviations of species names are given in accordance with Tables 1 and 2)

устойчивости в полевом эксперименте на Адлерской опытной станции ВИР.

У *Lagenaria siceraria* при использовании SCAR-маркера GPDSATG/CTC75 появление ПЦР-продукта размером 75 пп указывает на наличие устойчивости. Действительно, для 7 образцов лагенарии в молекулярном исследовании такой результат был достигнут (рис. 3, В; см. Suppl. 1, Table S1). Все эти образцы были устойчивы по результатам фитопатологической оценки в условиях открытого грунта на Адлерской опытной станции ВИР. Следует, однако, отметить, что образцы, не генерирующие диагностических фрагментов, также проявляли устойчивость к мучнистой росе.

Обсуждение

По результатам молекулярного скрининга образцов редких тыквенных культур изученные маркеры можно было разделить на три группы.

Группа 1. В результате ПЦР/рестрикции образуются диагностические фрагменты, которые, по литературным данным, ассоциированы с устойчивостью к мучнистой росе: маркеры Cla019831/TaqI и GPDSATG_CTC75 у лагенарии, маркер M5349 у люффы (см. Suppl. 1, Table S1).

Группа 2. В результате ПЦР/рестрикции получены только диагностические фрагменты, ассоциированные с восприимчивостью к мучнистой росе: маркеры CslRR-RPK2/HinfI и CsaMLO8 у лагенарии, люффы и у рода *Cucumis*, PMR1 у люффы и *CmoAP2/ERF-dCAPS/PstI* у лагенарии (см. Suppl. 1, Table S1).

Группа 3. Полученные ампликоны имеют нестандартные размеры, не указанные в литературном источнике: SCAR-маркеры PMR2 – PMR6 и PM6 у люффы, CAPS-маркеры S9_1539675/HpaII и NBS_S9_1495924/HaeIII у всех редких тыквенных. Маркер PMR1 относился одновременно к группам 2 и 3. Следует отметить, что все использованные в работе праймеры генерировали ПЦР-продук-

ты только у части изученных образцов редких тыквенных культур, у многих амплификация отсутствовала (Suppl. 1, Table S1).

Таким образом, при анализе редких тыквенных культур большинство проанализированных праймеров не дают ПЦР-продуктов, или же получаемые фрагменты отличаются по размеру от диагностических, то есть они не эффективны в молекулярном скрининге. Это может быть связано с давним эволюционным расхождением видов (Xie et al., 2019) и с независимыми изменениями структуры генов и QTL, обеспечивающих иммунный ответ при заражении патогеном. Диагностические фрагменты, связанные с устойчивостью, в принципе удается получить только для маркеров, разработанных для самих этих культур или для очень близких видов: маркера GPDSATG_CTC75, разработанного для лагенарии, маркера M5349, разработанного для люффы, а также маркера Cla019831/TaqI, изначально разработанного для арбуза. При этом те образцы лагенарии и люффы, которые не генерировали диагностических фрагментов маркеров, также проявляли устойчивость к мучнистой росе, то есть правильной ассоциации «маркер – признак» достигнуто не было.

Высокая устойчивость редких тыквенных культур к мучнистой росе в условиях влажных субтропиков на Черноморском побережье Кавказа может свидетельствовать о присутствии у них генов устойчивости, обеспечивающих защиту, которую не может преодолеть патоген. Известно, что устойчивость к мучнистой росе является расоспецифичной (Lebeda et al., 2008, 2016). В исследовании, проводившемся в пяти странах (Таиланд, Филиппины, Вьетнам, Индия, Китай), где широко культивируются тыквенные культуры, относящиеся к редким на территории Российской Федерации, было показано, что восприимчивая линия горькой тыквы THMC 144 оказалась устойчивой к расам *Podosphaera xanthii*, выделенным из патогенов, поражающих

другие тыквенные в Европе и Средиземноморье (Lebeda et al., 2008). Велика вероятность того, что на территории Адлерской опытной станции, где проводились полевые эксперименты, не было тех рас патогена, которые могли бы поражать задействованные в ходе исследования образцы из коллекции ВИР. В этом случае молекулярный анализ с использованием маркеров GPDSATG_CTC75, M5349 и Cla019831/TaqI может выявить в коллекции формы, потенциально устойчивые к тем расам, которые пока отсутствуют на Черноморском побережье Кавказа, но могут попасть туда при расширении торговли с азиатскими странами, а именно 12 образцов *Luffa cylindrica* и столько же образцов *Lagenaria siceraria*, которые обладают новыми уникальными генами устойчивости.

Заключение

В ходе данной работы проведен молекулярный скрининг обширной выборки 110 образцов редких тыквенных культур с использованием 15 молекулярных маркеров генов и QTL устойчивости к мучнистой росе, известных из литературы. Параллельно проведена фенотипическая оценка их устойчивости в условиях влажных субтропиков на Адлерской опытной станции ВИР. Показано, что все растения *Lagenaria siceraria*, *Luffa cylindrica* и рода *Cucumis* не поражались патогеном, несмотря на то что на станции присутствовал высокий инфекционный фон. Большинство маркеров, разработанных для распространенных тыквенных культур, таких как кабачок, мускатная тыква, огурец, дыня, оказались абсолютно непригодны для редких тыквенных. Маркеры GPDSATG_CTC75, M5349 и Cla019831/TaqI, разработанные для лагенарии, люффы и родственного ей арбуза, генерировали у некоторых образцов редких тыквенных фрагменты, которые, по литературным данным, ассоциированы с устойчивостью. Вероятно, эти маркеры могут быть использованы для превентивного отбора образцов, устойчивых к тем расам *Podosphaera xanthii*, которые пока отсутствуют на Черноморском побережье Кавказа.

References / Литература

- Adeniji A.A., Coyne D.P. Genetics and nature of resistance to powdery mildew in crosses of butternut with calabaza squash and 'Seminole Pumpkin'. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 1983;108(3):360-368. DOI: 10.21273/JASHS.108.3.360
- Alavilli H., Lee J.J., You C.R., Poli Y., Kim H.J., Jain A. et al. GWAS reveals a novel candidate gene *CmoAP2/ERF* in pumpkin (*Cucurbita moschata*) involved in resistance to powdery mildew. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(12):6524. DOI: 10.3390/ijms23126524
- Anarjan M.B., Bae I., Lee S. Marker-assisted evaluation of two powdery mildew resistance candidate genes in Korean cucumber inbred lines. *Agronomy*. 2021;11(11):2191. DOI: 10.3390/agronomy11112191
- Antonova O.Yu., Klimenko N.S., Rybakov D.A., Fomina N.A., Zheltova V.V., Novikova L.Yu., Gavrilenko T.A. SSR analysis of modern Russian potato varieties using DNA samples of nomenclatural standards. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2020;3(4):77-96. [in Russian] (Антонова О.Ю., Клименко Н.С., Рыбаков Д.А., Фомина Н.А., Желтова В.В., Новикова Л.Ю. Гавриленко Т.А. SSR-анализ современных российских сортов картофеля с использованием ДНК номенклатурных стандартов. *Биотехнология и селекция растений*. 2020;3(4):77-96. DOI: 10.30901/2658-6266-2020-4-02
- Bangboye A.I., Oniya O.O. Fuel properties of loofah (*Luffa cylindrica* L.) biofuel blended with diesel. *African Journal of Environmental Science and Technology*. 2012;6(9):346-352. DOI: 10.5897/AJEST11.364
- Berensen F.A., Piskunova T.M., Kuzmin S.V., Moskalu A.F., Antonova O.Yu., Artemyeva A.M. Molecular screening of squash and patisson squash collection samples using markers of the *Pm-0* gene, which controls resistance to powdery mildew. *Ecological Genetics*. 2023;21(2):107-121. [in Russian] (Беренсен Ф.А., Пискунова Т.М., Кузьмин С.В., Москалу А.Ф., Антонова О.Ю., Артемьева А.М. Молекулярный скрининг образцов коллекции кабачка и патиссона с использованием маркера гена *Pm-0*, контролирующего устойчивость к мучнистой росе. *Экологическая генетика*. 2023;21(2):107-121). DOI: 10.17816/ecogen110988
- Chomicki G., Renner S.S. Watermelon origin solved with molecular phylogenetics including Linnaean material: another example of museomics. *New Phytologist*. 2015;205(2):526-532. DOI: 10.1111/nph.13163
- Contin M.E., Munger H.M. Inheritance of powdery mildew resistance in interspecific crosses with *Cucurbita martinii*. *HortScience*. 1977;12(4):397.
- Demir H., Top A., Balköse D., Ulkü S. Dye adsorption behavior of *Luffa cylindrica* fibers. *Journal of Hazardous Materials*. 2008;153(1-2):389-394. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2007.08.070
- Dhillon N.P.S., Sanguansil S., Srimat S., Schafleitner R., Manjunath B., Agarwal P. et al. Cucurbit powdery mildew-resistant bitter melon breeding lines reveal four races of *Podosphaera xanthii* in Asia. *HortScience*. 2018;53(3):337-341. DOI: 10.21273/HORTSCI12545-17
- Dorokhov D.B., Klocke E. A rapid and economic technique for RAPD analysis of plant genomes. *Russian Journal of Genetics*. 1997;33(4):443-450.
- FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics: [website]. Available from: <https://www.fao.org/statistics/en> [accessed Jun. 24, 2024].
- Holdsworth W.L., LaPlant K.E., Bell D.C., Jahn M.M., Mazourek M. Cultivar-based introgression mapping reveals wild species-derived *Pm-0*, the major powdery mildew resistance locus in squash. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167715. DOI: 10.1371/journal.pone.0167715
- Karaca F., Yetişir H., Solmaz İ., Çandır E., Kurt Ş., Sarı N. Rootstock potential of Turkish *Lagenaria siceraria* germplasm for watermelon: plant growth, yield and quality. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2013;36:167-177. DOI: 10.3906/SAG-1211-92
- Kim K.H., Hwang J.H., Han D.Y., Park M., Kim S., Choi D. et al. Major quantitative trait loci and putative candidate genes for powdery mildew resistance and fruit-related traits revealed by an intraspecific genetic map for watermelon (*Citrullus lanatus* var. *lanatus*). *PLoS One*. 2015;10(12):e0145665. DOI: 10.1371/journal.pone.0145665
- Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., McCreight J.D., Coffey M.D. Cucurbit powdery mildews: methodology for objective determination and denomination of races. *European Journal of Plant Pathology*. 2016;144(2):399-410. DOI: 10.1007/s10658-015-0776-7
- Lebeda A., Křístková E., Sedláková B., McCreight J.D., Coffey M.D. New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: M. Pitrat (ed.). *Proceedings of the IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae*. Avignon, France, 21-24 May 2008. Avignon: INRA; 2008. p.125-134.

- Ling K.S., Levi A. Sources of resistance to zucchini yellow mosaic virus in *Lagenaria siceraria* germplasm. *HortScience*. 2007;42(5):1124-1126. DOI: 10.21273/HORTSCI.42.5.1124
- Ma L., Wang Q., Mu J., Fu A., Wen C., Zhao X. et al. The genome and transcriptome analysis of snake gourd provide insights into its evolution and fruit development and ripening. *Horticulture Research*. 2020;7(1):199. DOI: 10.1038/s41438-020-00423-9
- McGrath M.T. Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. *Plant Disease*. 2001;85(3):236-245. DOI: 10.1094/PDIS.2001.85.3.236
- Park B., Jang S., Yu Y., Choi G.J., Kang B., Seo S.T. QTL mapping and molecular markers of powdery mildew resistance in pumpkin (*Cucurbita moschata*). *Horticultural Science and Technology*. 2020;38(5):717-729. DOI: 10.7235/HORT.20200065
- Piskunova T.M. Studying the global collection of pumpkin, marrow, pattypan and crookneck squashes and its maintenance in viable conditions: (guidelines). St. Petersburg: VIR; 2020. [in Russian] (Пискунова Т.М. Изучение и поддержание в живом виде мировой коллекции тыквы, кабачка, патиссона, крукнека: (методические указания). Санкт-Петербург: ВИР; 2020). DOI: 10.30901/978-5-907145-21-4
- PROSEA. Plant Resources of South-East Asia: [website]. Available from: <https://prosea.prota4u.org> [accessed Jun. 24, 2024].
- Rai S., Sarkar R.K., Datta S., Rai U., Sindhu V. Recent advances in luffa vegetables. In: *Futuristic Trends in Biotechnology*. Chikkamagaluru: Iterative International Publishers; 2023. p.1-13. DOI: 10.58532/V2BS28CH1
- Rehman S., Rashid A., Manzoor M.A., Li L., Sun W., Riaz M.W. et al. Genome-wide evolution and comparative analysis of superoxide dismutase gene family in Cucurbitaceae and expression analysis of *Lagenaria siceraria* under multiple abiotic stresses. *Frontiers in Genetics*. 2022;12:784878. DOI: 10.3389/fgene.2021.784878
- Singh A.K. Cytogenetics and evolution in the Cucurbitaceae. In: D.M. Bates, R.W. Robinson, C. Jeffrey (eds). *Biology and Utilization of Cucurbitaceae*. Ithaca, NY: Cornell University Press; 1990. p.10-28. Available from: https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781501745447_A37645839/preview-9781501745447_A37645839.pdf [accessed Jun. 17, 2024].
- State Register for Selection Achievements Admitted for Usage (National List). Vol. 1 "Plant varieties" (official publication). Moscow: Rosinformagrotech; 2019. [in Russian] (Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). Москва: Росинформгротех; 2019).
- Varivoda O.P., Maslennikova E.S. Assessment and selection of source material for creating melon hybrids with integrated resistance to anthracnose and powdery mildew. *Vegetable Crops of Russia*. 2019;(5):20-24. [in Russian] (Варивода О.П., Масленникова Е.С. Оценка и подбор исходного материала для создания гибридов дыни с комплексной устойчивостью к антракнозу и мучнистой росе. *Овощи России*. 2019;(5):20-24). DOI: 10.18619/2072-9146-2019-5-20-24
- Wang L., Wu X., Wang B., Xu P., Li G. SCAR marker linked to resistance gene of powdery mildew in bottle gourd [*Lagenaria siceraria* (Molina) Standl.] breeding line J083. *Journal of Zhejiang University*. 2011;37(2):119-124. DOI: 10.3785/j.issn.1008-9209.2011.02.001
- Xie D., Xu Y., Wang J., Liu W., Zhou Q., Luo S. et al. The wax gourd genomes offer insights into the genetic diversity and ancestral cucurbit karyotype. *Nature Communications*. 2019;10(1):5158. DOI: 10.1038/s41467-019-13185-3
- Yuste-Lisbona F.J., Capel C., Gómez-Guillamón M.L., Capel J., López-Sesé A.I., Lozano R. Codominant PCR-based markers and candidate genes for powdery mildew resistance in melon (*Cucumis melo* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2011;122(4):747-758. DOI: 10.1007/s00122-010-1483-6
- Zhaoqing Quanfa Agricultural Development Co Ltd. Molecular marker related to towel gourd powdery mildew and application thereof. China; patent number: CN111996285B; 2021.

Информация об авторах

Елена Николаевна Маркова, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, Научно-технологический университет «Сириус», Научный центр генетики и наук о жизни, 354340 Россия, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», пгт. Сириус, Олимпийский пр., 1, markova.en@talantiuspeh.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9454-6594>

Федор Алексеевич Беренсен, заведующий лабораторией, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, f.berensen@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0492-2024>

Ирина Валерьевна Гашкова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, i.gashkova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8758-893X>

Ольга Юрьевна Антонова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Information about the authors

Elena N. Markova, Associate Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, Sirius University of Science and Technology, Research Center of Genetics and Life Sciences, 1 Olimpiyskiy Ave., Sirius Settle., Sirius Federal Territory, Krasnodar Territory 354340, Russia, markova.en@talantiuspeh.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9454-6594>

Fedor A. Berensen, Head of a Laboratory, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, f.berensen@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0492-2024>

Irina V. Gashkova, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, i.gashkova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8758-893X>

Olga Yu. Antonova, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, olgaant326@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8334-8069>

Вклад авторов: все авторы сделали существенный вклад в проведение исследования и подготовку публикации. Маркова Е.Н. – выделение ДНК-препаратов; проведение молекулярного скрининга; сбор и обработка материала; написание текста; обзор литературы. Беренсен Ф.А. – проведение молекулярного скрининга. Антонова О.Ю. – концепция и дизайн исследования; написание текста. Гашкова И.В. – формирование выборки; описание биологических и экологических особенностей редких тыквенных культур.

Contribution of the authors: all authors made a significant contribution to the study and preparation of the publication. Markova E.N. – DNA extraction; molecular screening; collection and processing of materials; writing of the text; reviewing of publications. Berensen F.A. – molecular screening. Antonova O.Yu. – concept and design of the study; writing of the text. Gashkova I.V. – formation of the subset of experimental accessions; description of biological and environmental features of rare cucurbits.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 25.10.2024; одобрена после рецензирования 26.11.2024; принята к публикации 03.12.2024.

The article was submitted on 25.10.2024; approved after reviewing on 26.11.2024; accepted for publication on 03.12.2024.