

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ ТОМАТА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К КЛАДОСПОРИОЗУ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ

DOI: 10.30901/2227-8834-2019-3-63-70

УДК 635-152:635.64

Поступление/Received: 02.07.2019

Принято/Accepted: 18.09.2019

И. Н. ШАМШИН, М. В. МАСЛОВА, Ю. В. ГРЯЗНЕВА

Мичуринский государственный аграрный университет,
393760 Россия, Тамбовская обл., г. Мичуринск,
ул. Интернациональная, 101;
✉ ivan_shamshin@mail.ru

ANALYSIS OF A GENETIC COLLECTION OF TOMATO
CULTIVARS AND HYBRID FORMS FOR RESISTANCE TO
LEAF MOLD USING DNA MARKERS

I. N. SHAMSHIN, M. V. MASLOVA, Y. V. GRYAZNEVA

Michurinsk State Agrarian University,
101 Internatsionalnaya St., Michurinsk,
Tambov Province 393760, Russia;
✉ ivan_shamshin@mail.ru

Актуальность. Одной из наиболее вредоносных болезней томата является кладоспориоз, вызываемый грибом *Cladosporium fulvum* Cooke. Надежным и экологически безопасным способом защиты томата от болезней является создание устойчивых сортов и гибридов. В основе данного метода лежит изучение генетических аспектов устойчивости растений к патогенам. Маркерный отбор исходных форм томата – сравнительно новый подход в селекции, основанный на прямом отборе растений по генам, определяющим хозяйственно ценные признаки. Он позволяет проводить анализ селекционного материала в короткие сроки. **Материалы и методы.** В представленной работе изложены результаты скрининга более 30 образцов генетической коллекции сортов и гибридов томата Мичуринского ГАУ с использованием молекулярного маркера P7. **Результаты и обсуждение.** Оценен полиморфизм гена устойчивости к кладоспориозу *Cf-19*. Получены четкие, воспроизводимые результаты. Для тестирования маркера были использованы семь гибридных форм томата закрытого грунта. Подтверждение надежности выявления гена *Cf-19* с помощью маркера P7 проводили путем искусственного заражения грибом *C. fulvum*. При этом шесть гибридов из семи показали высокий уровень устойчивости к патогену, что подтверждается данными оригинаторов. Сильное поражение отмечено на листьях только одного гибрида. На основании молекулярно-генетического анализа установлено, что из всех контрольных образцов, только данный генотип является рецессивной гомозиготой. Кроме того, по данным оригинатора, он не обладает устойчивостью к кладоспориозу. Проведенный эксперимент доказывает высокую эффективность маркера P7. С его использованием было проанализировано 35 генотипов. Полученные в ходе работы данные показывают, что большинство исследуемых образцов оказались гетерозиготными. Однако отмечены и гомозиготные формы. Так, сорт томата 'Золотой дождь' имеет только один фрагмент размером 250 пн, что соответствует рецессивной гомозиготе. У четырех генотипов выявлен фрагмент размером 300 пн, что соответствует доминантной гомозиготе. Проведенный молекулярно-генетический анализ позволил выявить ряд генотипов, которые рекомендованы в качестве источников устойчивости к кладоспориозу.

Ключевые слова: селекция, гены устойчивости, *Cladosporium fulvum* Cooke, молекулярные маркеры, ПЦР.

Background. Leaf mold, a disease caused by the fungus *Cladosporium fulvum* Cooke in tomato, is one of the reasons for a significant decrease in the fruit yield. The most reliable and environmentally friendly way to protect tomato from diseases is the development of resistant cultivars and hybrids. The study of genetic aspects of disease resistance in plants is the basis of successful breeding work. Marker-assisted selection of the source forms of tomato is a relatively new approach in breeding, based on direct selection of plants for genes that determine the economically important traits. It allows for the time-saving analysis of breeding material. **Materials and methods.** The present work offers the results of screening more than 30 accessions from the genetic collection of tomato cultivars and hybrids of the Michurinsk State Agrarian University using the P7 molecular marker. **Results and discussion.** Polymorphism of the *Cf-19* gene of resistance to leaf mold was evaluated, and clear reproducible results were obtained. To test the marker, seven hybrid forms of greenhouse tomato were used. The reliable identification of the *Cf-19* gene by using the P7 marker was confirmed through artificial infection with *C. fulvum*. Six out of seven hybrids demonstrated a high level of resistance to the pathogen, which is confirmed by the originators' data. A strong lesion was noted on the leaves of only one hybrid. The molecular genetic analysis has shown that among all control samples, only this genotype was a recessive homozygote. Besides, according to the originator, this genotype is not resistant to leaf mold. The performed test proves the high efficiency of the P7 marker. By using it, 35 genotypes were analyzed. The data obtained during the work show that the majority of the studied samples turned out to be heterozygous. At the same time, homozygous forms were also noted. For instance, the 'Golden Rain' tomato cultivar has only one 250 bp fragment, which corresponds to a recessive homozygote. Four genotypes were found to contain 300 bp fragments, which correspond to dominant homozygotes. The molecular genetic analysis revealed a number of genotypes that can be used as sources of resistance to leaf mold.

Key words: breeding, genes of resistance to *Cladosporium fulvum* Cooke, molecular markers, PCR.

Введение

Томат – важная сельскохозяйственная культура, которая выращивается как в условиях открытого, так и защищенного грунта. Основным фактором, снижающим урожайность и качество плодов томата, является высокая поражаемость грибными патогенами. Надежным и экологически безопасным способом защиты томата от болезней является создание устойчивых сортов и гибридов (Padvitski et al., 2013).

Знание фундаментальных аспектов устойчивости растений томата к грибным болезням на генетическом уровне позволяет проводить скрининг больших коллекций и выявлять источники целевых генов в качестве ценного селекционного материала. Это является основополагающим этапом создания новых резистентных генотипов, использование которых в производстве позволяет реализовать принципы органического земледелия.

Маркерный отбор исходных форм томата – сравнительно новый подход в селекции, основанный на прямом отборе растений по генам, определяющим хозяйственно ценные признаки (Robbins et al., 2010). На основании анализа генома исходных форм, отбора перспективных генотипов с последующим скрещиванием создаются гибриды с оптимальным сочетанием агрономически важных генов из разных источников.

Листовая плесень, или кладоспориоз томата (возбудитель – гриб *Cladosporium fulvum* Cooke), приводит к снижению урожайности, качества плодов, а также гибели целых растений. При совместимых взаимодействиях с восприимчивыми формами томата споры гриба прорастают на абаксиальной поверхности листьев и попадают в апопласт листа через устьица. При этом инфицированные клетки некротизируются (Hammond-Kosack, Jones, 1996).

Известно, что гены томата *Cf* организованы как кластеризованные генные семейства. Каждый локус включает тандемные массивы близкородственных гомологов с различающимися спецификами распознавания, что наблюдается у большинства генов устойчивости (De Wit, Joosten, 1999).

В настоящее время из разных источников томата в селекцию вовлечены гены устойчивости *Cf-1*, *Cf-2*, *Cf-3*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-9*, хотя в геноме диких видов известно 24 гена *Cf* (Poliksenova, 2002, Wang et al., 2007). Это в свою очередь создало эволюционное давление на возбудителя болезни *C. fulvum*, что позволило ему преодолеть действие большинства генов (Zhao et al., 2016).

Гены *Cf* кодируют белки с классическими сигнальными пептидными доменами в N-конце, LRRs и трансмембранной области в C-конце. *Cf-4* и *Cf-9* имеют одинаковые C-концы, в то время как в их N-концевых частях обнаружена значительная степень расхождения последовательностей. Эта разница между *Cf-4* и *Cf-9* обуславливает специфику их распознавания.

Маркер P7 был разработан на основе вставки 60 пн в области N-конца кодирования гена *Solyc01g006550.2.1-CGN18423*, идентифицированного у *Lycopersicon esculentum* Mill. Результаты поиска показали, что не было генов, полностью гомологичных гену *Solyc01g006550.2.1-CGN18423* (*Cf-19*). Это свидетельствует о том, что данный ген является новым членом локуса *Cf-4/9*.

Исследования показали, что *Cf-19* является доминантным геном. Он индуцирует сверхчувствительность у растений томатов, инокулированных 1–4 физиологически расами *C. fulvum*. Это указывает на то, что он является функциональным членом семейства генов *Cf*. Для идентификации гена *Cf-19* и скрининга генетических коллекций томата был создан молекулярный маркер P7. Этот маркер был протестирован на растениях F₂ и различных линиях F₃ томата. Анализ хи-квадрат показал, что распре-

деление резистентных и восприимчивых особей популяции F₂ составило 3 : 1, а при проведении анализирующего скрещивания – 1 : 1, т. е. как и в случае полного подавления доминантным аллелем действия рецессивного аллеля в гетерозиготном состоянии. При проведении анализа связей данного маркера в популяции F₂, состоящей из 345 растений, было отобрано три группы гибридов: 1) растения с устойчивым гомозиготным генотипом, 2) растения с устойчивым гетерозиготным генотипом, 3) растения с чувствительным гетерозиготным генотипом. Кроме того, установлено, что ген *Cf-19* может также маскироваться под неполное доминирование, приводя к более высокому уровню тяжести заболевания для некоторых гетерозиготных растений. Большая часть этих растений была выделена в восприимчивые. Хотя не все образцы дали последовательные результаты в тестах с инокуляцией и маркированием с помощью P7. Однако достоверность P7 в идентификации генотипа достаточна для маркер-опосредованной селекции (MAC) (Zhao et al., 2016).

На сегодняшний день не зарегистрировано ни одного поражения для томата с геном *Cf-19*. Растения, несущие данный ген, проявляют эффективную устойчивость в полевых условиях.

Цель данной работы – скрининг коллекции сортов и гибридов томата Мичуринского ГАУ с использованием молекулярного маркера P7 для идентификации доноров устойчивости к кладоспориозу с последующим подтверждением надежности выявления гена *Cf-19* путем искусственного заражения растений грибом *C. fulvum*.

Материалы и методы

Для проведения молекулярно-генетического анализа использованы следующие методы. Выделение ДНК проводилось из молодых листьев СТАВ-методом (Doyle J.J., Doyle J.L., 1990) с модификациями (Shamshin et al., 2013). Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTP, 2,5 мМ MgSO₄, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 10х стандартного ПЦР-буфера. Реакцию проводили в приборе SimpliAmp (Life Technology) по программе: 94°C – 4 мин, 35 циклов 94°C – 30 с, 60°C – 30 с, 72°C – 1 мин и финальная элонгация в течение 7 мин при 72°C. 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 созданного молекулярного маркера (Zhao et al., 2016). При проведении реакции использованы последовательности праймерных пар, синтезированных ЗАО «Синтол», г. Москва (табл. 1).

В качестве биологических объектов использованы сорта и гибриды томата из коллекции Мичуринского ГАУ. Всего проанализировано 35 генотипов (табл. 5).

С целью проверки эффективности генетических маркеров устойчивости к патогену проводили искусственное заражение листьев томата суспензией спор *C. fulvum*. Для этого с поверхности колоний *C. fulvum* после культивирования их на агаризированной питательной среде стерильной водой смывали споры и фрагменты мицелия. Путем микроскопирования смывов подсчитывали количество живых структур гриба в поле зрения при увеличении ×600. Разбавляя полученный инокулюм стерильной водой, данный показатель доводили до 10–15 спор.

Полученную суспензию мицелия и спор наносили на поверхность листьев томата стерильным ватным тампоном, после чего листья инкубировали в чашках Петри, то есть в условиях влажной камеры. В контрольном варианте поверхность листьев увлажняли стерильной водой. Учет степени поражения болезнями проводили по степе-

Таблица 1. Нуклеотидные последовательности использованных специфических праймеров**Table 1. Nucleotide sequences of the used specific primers**

№ п\п	Название Name	Последовательность Sequences	Автор оригинальной статьи The author of the original paper
1	P7F	AGTGCAGAAATGGGTTGTGTA	Zhao et al., 2016
2	P7R	CCGGAGATCAAGCTCAACCA	

ни некротизации тканей листа с использованием балловой шкалы:

- 0 – поражение отсутствует;
- 1 – поражение очень слабое, единичные хлорозные или некротические пятна;
- 2 – поражение слабое, до 10% поверхности листа занимает некроз или до 25% – хлороз;
- 3 – поражение среднее, до 25% – некроз или до 50% – хлороз;
- 4 – поражение сильное, до 50% – некроз, хлороз более 50%;
- 5 – поражение очень сильное, некроз более 50%.

Результаты и обсуждение

Тестирование значительной части коллекции исходных форм томата Мичуринского ГАУ с использованием маркера P7 позволило получить четкие воспроизводимые результаты по распространению и полиморфизму гена *Cf-19*.

Для тестирования маркера были использованы гибридные формы томата закрытого грунта Форенза F₁, Калибр F₁, Максимато F₁, Таганка F₁, Физума F₁, Мопс F₁ и Малибу F₁. Согласно общепринятым требованиям, предъявляемым к сортам и гибридам закрытого грунта, они проходят испытания на устойчивость к ряду заболеваний (Pnueli et al., 1998; Tereshonkova et al., 2016). В таблице 2 отмечены возбудители болезней, устойчивость к которым должны иметь томаты закрытого грунта, а также коды этих возбудителей согласно правилам Международной Федерации по семеноводству (<https://www.worldseed.org/our-work/plant-health/pathogen-codes/>).

По данным оригинаторов (табл. 3), исследуемые формы прошли предварительную проверку на устойчивость к таким грибным болезням, как листовая плесень (кладоспориоз), фузариозное увядание, вертициллезное увядание, и рекомендованы для использования в условиях защищенного грунта. Устойчивость сортов выражается с помощью специфических для культур кодов устойчивостей.

Таблица 2. Коды устойчивости к основным грибным болезням томата**Table 2. Codes for resistance to the major fungal diseases of tomato**

Патоген Pathogen	Код устойчивости Codes for resistance	Общепринятое наименование болезни Name of the disease
<i>Fulvia fulva</i> (синонимы <i>Passalora fulva</i> , <i>Cladosporium fulvum</i>)	Ff (Pf)	Листовая плесень (кладоспориоз)
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Fol	Фузариозное увядание
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>raphani</i>	For	Фузариоз
<i>Verticillium albo-atrum</i>	Va	Вертициллезное увядание
<i>Verticillium dahliae</i>	Vd	Вертициллезное увядание

Таблица 3. Коды устойчивости к грибным болезням у исследуемых гибридов F₁ томата**Table 3. Codes for resistance to fungal diseases in the studied F₁ tomato hybrids**

Генотип Genotype	Коды устойчивости Codes for resistance	Источник информации Source of information
Максимато F ₁	HR*: Va:0 / Vd:0 / Fol /For	http://www.axiaseeds.com/es/our-products/tomatoes/semillas-de-tomate-para-invernaderos-climatizados/maximato/
Форенза F ₁	HR: Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol:0,1	http://www.enzazaden.ru/products-and-services/our-products/Forenza/
Физума F ₁	HR: Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol:0,1/For	http://www.enzazaden.ru/products-and-services/our-products/Fizuma
Калибр F ₁	HR: Ff: A-E /For	https://www.agrorubo.ru/jurnal/rastenievodstvo/ovoshhi/sorta/pomidory/tomat-kalibr-f1-116
Малибу F ₁	HR: Va:0/Vd:0/Fol:0,1	https://gavrishprof.ru/tomat
Мопс F ₁	HR: Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol	https://gavrishprof.ru/tomat https://www.heterosis.ru/tomat/45-mops-f1.html
Таганка F ₁	HR: Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol	https://gavrishprof.ru/tomat

* HR – высокая устойчивость.

При проведении реакции с использованием праймера P7 синтезируется два фрагмента размером 250 пн и 300 пн. Устойчивые генотипы томата имеют фрагмент 300 пн, неустойчивые – 250 пн (рис. 1).

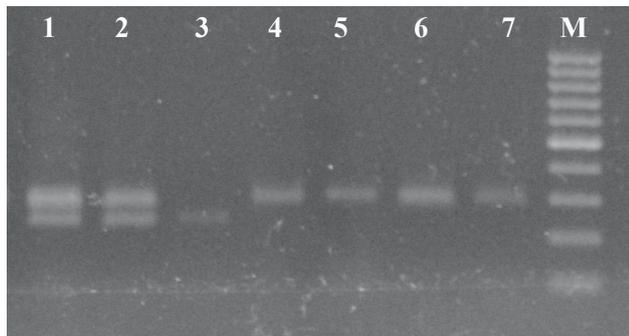


Рис. 1. Результаты амплификации ДНК томата с праймером P7:

1 – Форенза F₁, 2 – Калибр F₁, 3 – Максимата F₁, 4 – Таганка F₁, 5 – Физума F₁, 6 – Мопс F₁, 7 – Малибу F₁;
M – маркер молекулярного размера 100 пн.

Fig. 1. The results of the tomato DNA amplification with the P7 primer:

1 – Forenza F₁, 2 – Calibr F₁, 3 – Maximata F₁, 4 – Taganka F₁, 5 – Fizuma F₁, 6 – Mops F₁, 7 – Malibu F₁;
M – 100 bp molecular size marker

При анализе контрольных образцов выявлены разные аллельные варианты гена *Cf-19*. Гибриды Форенза F₁, Калибр F₁ имеют 2 фрагмента (250 пн и 300 пн), что соответствует гетерозиготам. Гибрид Максимата F₁ является рецессивной гомозиготой (250 пн). Гибриды Таганка F₁, Физума F₁, Мопс F₁, Малибу F₁ имеют фрагмент 300 пн, что соответствует доминантной гомозиготе.

Подтверждение надежности выявления идентифицируемых генов *Cf-19* с помощью маркера P7 проводилось путем искусственного заражения грибом *C. fulvum*.

При моделировании инфекционной нагрузки на образцы томата было выявлено, что гибриды Форенза F₁, Физума F₁, Калибр F₁, Малибу F₁, Мопс F₁, Таганка F₁ показали высокий уровень устойчивости к патогену. Симптомы кладоспориоза на листьях данных форм не выявлены. По данным оригинаторов гибридов (табл. 3), Форенза F₁, Физума F₁, Калибр F₁, Мопс F₁, Таганка F₁ являются устойчивыми к листовой плесени.

Отмечено сильное поражение листьев гибрида Максимата F₁. На основании молекулярно-генетического анализа установлено, что только данный генотип являлся рецессивной гомозиготой. Кроме того, по данным оригинатора, он не обладает устойчивостью к кладоспориозу.

Анализ характеристики гибрида Малибу F₁ показал, что он не обладает высоким уровнем устойчивости к листовой плесени (табл. 4), но по результатам проведенного нами искусственного заражения он характеризовался резистентностью к *C. fulvum*. Молекулярно-генетический анализ с использованием маркера P7 показал наличие гена *Cf-19* в доминантном состоянии у данного гибрида.

Проведенный эксперимент доказывает высокую эффективность маркера P7 для идентификации гена устойчивости к кладоспориозу *Cf-19*. В связи с этим данный маркер рекомендуется для проведения молекулярно-генетического анализа гибридного потомства томата на наличие генетически детерминированного признака резистентности к наиболее распространенным расам *C. fulvum*.

С использованием маркера P7 был проведен скрининг коллекции исходных форм томата Мичуринского ГАУ. Всего проанализировано 35 генотипов. Результаты молекулярного анализа представлены в таблице 5.

Полученные в ходе работы данные показывают, что большинство исследуемых образцов (29 из 35) оказались гетерозиготными (рис. 2).

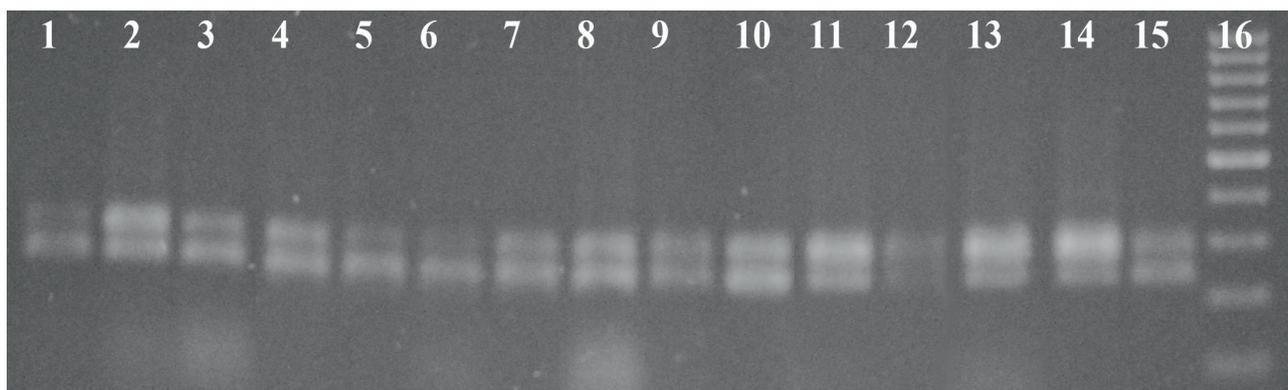


Рис. 2. Результаты амплификации ДНК томата с праймером P7:

1 – Золотой ключик, 2 – Оранжевая слива, 3 – Обыкновенный желтый чувашский, 4 – Корбетта, 5 – Жемчужинка, 6 – Сливка желтая, 7 – Оранжевые сливки, 8 – Крайний север, 9 – Северная малютка, 10 – Черномор, 11 – Балконное чудо, 12 – Перемога-165, 13 – Одуванчик, 14 – *Lycopersicon pimpinellifolium* (L.) Mill., 15 – Белле F1, 16 – маркер молекулярного размера 100 пн.

Fig. 2. Results of tomato DNA amplification with the P7 primer:

1 – Zolotoy klyuchik, 2 – Oranzhevaya sliva, 3 – Obyknovennyy zheltyy chuvashskiy, 4 – Korbetta, 5 – Zhemchuzhinka, 6 – Slivka zheltaya, 7 – Oranzhevyye slivki, 8 – Krayniy sever, 9 – Severnaya malyutka, 10 – Chernomor, 11 – Balkonnoye chudo, 12 – Peremoga-165, 13 – Oduvanchik, 14 – *Lycopersicon pimpinellifolium* (L.) Mill., 15 – Belle F1, 16 – 100 bp molecular size marker

Таблица 4. Поражаемость контрольных образцов томата грибом в зависимости от аллельного состояния гена

(300 пн – доминантный аллель, 250 пн – рецессивный аллель)

Table 4. Infection of tomato control samples with the fungus, depending on the gene allelic state
(300 bp – dominant allele, 250 bp – recessive allele)

№	Генотип Genotype	Результат искусственного заражения The result of artificial infection	300 пн 300 bp	250 пн 250 bp
1	2	3	4	5
1	Форенза F ₁		1	1
2	Калибр F ₁		1	1
3	Максимато F ₁		0	1
4	Таганка F ₁		1	0

№	Генотип Genotype	Результат искусственного заражения The result of artificial infection	300 пн 300 bp	250 пн 250 bp
1	2	3	4	5
5	ФизумаF ₁		1	0
6	МопсF ₁		1	0
7	МалибуF ₁		1	0

Отмечены и гомозиготные формы. Так, сорт томата 'Золотой дождь' имеет только один фрагмент размером 250 пн, что соответствует рецессивной гомозиготе.

Согласно полученным данным, большинство коллекционных образцов являются гетерозиготами. Как указывалось ранее, для гена *Cf-19* отмечено неполное доминирование. Это приводит к высокому уровню поражения у некоторых гетерозиготных форм, и большая часть из них характеризуется рядом исследователей как восприимчивые генотипы (Zhao et al., 2016).

Для полного понимания степени доминирования гена *Cf-19* в гетерозиготных формах целесообразно получить большую выборку гомозиготных доминантных форм для анализа с использованием искусственного заражения и проверки в полевых условиях. Однако гетерозиготные генотипы могут быть использованы в качестве генетических источников признака устойчивости к кладоспориозу.

Заключение

В ходе проведенных исследований проведена оценка коллекции сортов и гибридов томата Мичуринского ГАУ с использованием молекулярного маркера гена устойчивости к кладоспориозу *Cf-19*. Получены четкие, воспроизводимые результаты. Достоверность работы маркера P7 была проверена в лабораторных условиях методом искусственного заражения контрастных форм томата: показано соответствие данных фитопатологического и молекулярного анализов.

Поиск источников устойчивости к кладоспориозу позволил выделить доминантные (2) и рецессивные (1) гомозиготы, а также гетерозиготы (29). Доминантные гомозиготы и гетерозиготы рекомендуется использовать в качестве генетических источников устойчивости к кладоспориозу в селекционной работе.

Таблица 5. Результаты молекулярного анализа сортов и гибридов томата
(1 – наличие фрагмента, 0 – отсутствие фрагмента)**Table 5. Molecular analysis of tomato cultivars and hybrids**
(1 – fragment present, 0 – no fragment)

№ п\п	Сорт, гибридная форма Cultivar, hybrid form	250 пн 250 bp	300 пн 300 bp
1	Золотая рыбка	1	1
2	Золотой дождь	1	0
3	Вишня желтая	1	1
4	Луна	1	1
5	Амурская заря	1	1
6	Персик	1	1
7	Непрядва	1	1
8	Буй тур	1	1
9	ТЗ4 F ₁	1	1
10	Благородный принц	1	1
11	Форенза F ₁	1	1
12	Калибр F ₁	1	1
13	Максимато F ₁	1	0
14	Таганка F ₁	0	1
15	Физума F ₁	0	1
16	Мопс F ₁	0	1
17	Малибу F ₁	0	1
18	Золотой ключик F ₁	1	1
19	Оранжевая слива	1	1
20	Желтый чувашский	1	1
21	Корбетта	1	1
22	Жемчужинка	1	1
23	Сливка желтая	1	1
24	Оранжевые сливки	1	1
25	Крайний север	1	1
26	Северная малютка	1	1
27	Черномор	1	1
28	Балконное чудо	1	1
29	Перемога	1	1
30	Одуванчик	1	1
31	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> (L.) Mill.	1	1
32	Белле	1	1
33	Голландский красный	1	1
34	Грот	1	1
35	Дерево	1	1

References/Литература

- De Wit P.J.G.M., Joosten M.H.A.J. Avirulence and resistance genes in the *Cladosporium fulvum*-tomato interaction. *Curr Opin Microb.* 1999;2(4):368-373. DOI: 10.1016/S1369-5274(99)80065-4
- Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus.* 1990;12(1):13-15.
- Hammond-Kosack K.E., Jones J.D. Resistance gene-dependent plant defense responses. *Plant Cell.* 1996;8(10):1773-1791.
- Padvitski T.A., Galinovsky D.V., Tarutina L.A. Source of tomato (genus *Lycopersicon*) resistance to agent of economically significant diseases (Istochniki ustoychivosti tomatov (rod *Lycopersicon*) k vzbuditelyam khozyaystvenno znachimyykh zabolevaniy). *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus.* 2013;(4):45-49. [in Russian] (Подвицкий Т.А., Галиновский Д.В., Тарутина Л.А. Источники устойчивости томатов (род *Lycopersicon*) к возбудителям хозяйственно значимых заболеваний. *Известия национальной академии наук Беларуси.* 2013;(4):45-49).
- Pnueli L., Carmel-Goren L., Hareven D., Gutfinger T., Alvarez J., Ganai M. et al. The SELF-PRUNING gene of tomato regulates vegetative to reproductive switching of sympodial meristems and is the ortholog of CEN and TFL1. *Development.* 1998;125(11):1979-1989.
- Poliksenova V.D. Biodiversity in the pathosystem '*Lycopersicon* (Tourn.) Mill. – *Cladosporium fulvum* Cooke' (Bioraznoobraziye v patosisteme "*Lycopersicon* (Tourn.) Mill. – *Cladosporium fulvum* Cooke"). In: *Proceedings of the 2nd International Scientific & Practical Conference: Achievements of Modern Biology and Biological Education (Dostizheniya sovremennoy biologii i biologicheskoye obrazovaniye)*. Minsk; 2002. p.105-109. [in Russian] (Поликсенова В.Д. Биоразнообразие в патосистеме "*Lycopersicon* (Tourn.) Mill. – *Cladosporium fulvum* Cooke" / Достижения современной биологии и биологическое образование. *Труды 2-й Международной научно-практической конференции.* Минск; 2002. С.105-109). URL: http://www.bio.bs.u.by/botany/files/pub_polik2002a.pdf [дата обращения 15.02.2019].
- Robbins M.D., Masud M.A., Panthee D.R., Gardner R.G., Francis D.M., Stevens M.R. Marker-assisted selection for coupling phase resistance to tomato spotted wilt virus and *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato. *HortScience.* 2010;45(10):1424-1428. DOI: 10.21273/HORTSCI.45.10.1424
- Shamshin I.N., Kudryavtsev A.M., Saveliev N.I. Creation of genetic passports of apple varieties based on the analysis of the polymorphism of microsatellite genome loci: Guidelines (Sozdaniye geneticheskikh pasportov sortov yabloni na osnove analiza polimorfizma mikrosatellitnykh lokusov genoma: metodika). Michurinsk; 2013. [in Russian] (Шамшин И.Н., Кудрявцев А.М., Савельев Н.И. Создание генетических паспортов сортов яблони на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов генома: методика. Мичуринск; 2013).
- Tereshonkova T.A., Ognev V.V., Prokhorova K.G., Kostenko A.N., Khovrin A.N. Domestic tomato hybrids for South of Russia (Otechestvennyye gibridy tomat dlya yuga Rossii). *Kartofel i ovoshchi – Potatoes and Vegetables.* 2016;(4):38-40. [in Russian] (Терешонкова Т.А., Огнев В.В., Прохорова К.Г., Костенко А.Н., Ховрин А.Н. Отечественные гибриды томата для юга России. *Картофель и овощи.* 2016;(4):38-40).
- Wang A., Meng F., Xu X., Wang Y., Li J. Development of molecular markers linked to *Cladosporium fulvum* resistant gene Cf-6 in tomato by RAPD and SSR methods. *HortScience.* 2007;42(1):11-15. DOI: 10.21273/HORTSCI.42.1.11
- Zhao T., Jiang J., Liu G., He S., Zhang H., Chen X, Xu X. Mapping and candidate gene screening of tomato *Cladosporium fulvum*-resistant gene Cf-19, based on high-throughput sequencing technology. *BMC Plant Biol.* 2016;16:51. DOI: 10.1186/s12870-016-0737-0

Прозрачность финансовой деятельности/The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Для цитирования/How to cite this article

И.Н. Шамшин, М.В. Маслова, Ю.В. Грязнева. Анализ генетической коллекции сортов и гибридных форм томата по устойчивости к кладоспориозу с использованием ДНК-маркеров. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2019;180(3):63-70. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-3-63-70

Shamshin I.N., Maslova M.V., Gryazneva Y.V. Analysis of a genetic collection of tomato cultivars and hybrid forms for resistance to leaf mold using DNA markers. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding.* 2019;180(3):63-70. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-3-63-70

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы/The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация/Additional information

Полные данные этой статьи доступны/Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-3-63-70>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы/The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Все авторы одобрили рукопись/All authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует/No conflict of interest