



## Поиск генов устойчивости к болезням томата с использованием молекулярных маркеров для создания новых генотипов

И. Н. Шамшин<sup>1</sup>, А. С. Ильичев<sup>1</sup>, М. Г. Фомичева<sup>2</sup>, Е. В. Грошева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Мичуринский государственный аграрный университет, Мичуринск, Россия

<sup>2</sup>Федеральный научный центр овощеводства, Московская область, Россия

**Автор, ответственный за переписку:** Иван Николаевич Шамшин, ivan\_shamshin@mail.ru

**Актуальность.** Создание сортов и гибридов томата с комплексом генов устойчивости к основным болезням является основной задачей селекционера. Ускорить их получение позволяет применение молекулярных маркеров на стадиях отбора исходных форм и анализа потомства. В литературе имеется большой объем информации о ДНК-маркерах генов устойчивости. Значительная часть рекомендована для использования в маркер-опосредованной селекции. Целью нашей работы был скрининг коллекции сортов и гибридов томата с использованием молекулярных маркеров генов устойчивости к наиболее распространенным болезням томата открытого грунта – фитофторозу, корневым нематодам, вирусу бронзовости – и идентификация источников генов для селекционной работы. Для исследований отобраны маркеры: гена устойчивости к вирусу бронзовости *Sw-5b* – *Sw-5-2* гена устойчивости к галловой нематоде *Mil.2* – *Mi23* и 2 маркера гена устойчивости к фитофторозу *Ph-3* – *NC-LB-9-78* и *NC-LB-9-79*. В ходе работы проанализирована коллекция из 46 образцов сортов и гибридов томата. **Результаты.** В результате проведения молекулярно-генетического анализа получены четкие воспроизводимые фрагменты, соответствующие ожидаемым. Все используемые маркеры были кодоминантными. Анализ коллекционных образцов показал наличие в них полиморфизма по анализируемым генам. Выявлены перспективные для селекции сорта и гибриды томата по устойчивости к корневым нематодам (гибриды F<sub>1</sub>: А-01, 'Имитатор', 'Манон', сорта: 'Элегия' и 'Буй-Тур'), к вирусу бронзовости (гибриды F<sub>1</sub>: А-01, 'Манон' и сорт 'Буй-Тур'), а также фитофторозу (гибриды F<sub>1</sub>: А-01, 'Ажур', 'Барин', 'Властелин степей', 'Жирдяй', Лучший СеДеК, 'Манон', сорта: 'Буй-Тур', 'Зефир в шоколаде', 'Золотая капля', 'Красавец', 'Лодочка', 'Метелица', 'Мечта Алисы', 'Сибирский тигр', 'Славянский шедевр', 'Элегия'). Данные сорта и гибриды целесообразно использовать в качестве источников генов устойчивости. На основании полученных данных отобрано пять исходных форм для селекции. Проведена оценка их внутрисортного полиморфизма по исследуемым генам. В качестве родительских форм были использованы сорта 'Красавец' и 'Сибирский тигр'. Проведена их гибридизация и получены гибридные формы гомозиготные по доминантному аллелю гена *Ph-3*. **Заключение.** Проведенные исследования позволили оценить коллекцию сортов и гибридов томата по наличию генов устойчивости к наиболее распространенным болезням с использованием молекулярных маркеров. На основании полученных данных отобраны родительские пары, проведена гибридизация и получены гибридные формы с геном устойчивости к фитофторозу.

**Ключевые слова:** маркер-опосредованная селекция, ДНК-маркер, нематоды, вирус бронзовости, *Phytophthora infestans*

**Благодарности:** работа выполнена в рамках НИР Министерства науки и высшего образования РФ № 122021800376-2

**Для цитирования:** Шамшин И.Н., Ильичев А.С., Фомичева М.Г., Грошева Е.В. Поиск генов устойчивости к болезням томата с использованием молекулярных маркеров для создания новых генотипов. *Биотехнология и селекция растений*. 2024;7(3):19-30. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-01

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы. Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы.

© Шамшин И.Н., Ильичев А.С., Фомичева М.Г., Грошева Е.В., 2024

## Original article

DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-01

## A search for tomato disease resistance genes using molecular markers to create new genotypes

Ivan N. Shamshin<sup>1</sup>, Alexey S. Ilyichev<sup>1</sup>, Maria G. Fomicheva<sup>2</sup>, Ekaterina. V. Grosheva<sup>1</sup><sup>1</sup>Michurinsk State Agrarian University, Michurinsk, Russia<sup>2</sup>Federal Scientific Vegetable Center, Moscow Region, Russia**Corresponding author:** Ivan N. Shamshin, ivan\_shasmhin@mail.ru

**Background.** The creation of tomato cultivars and hybrids with a complex of resistance genes is the main task of a breeder. This process can be accelerated through the use of molecular markers at the stages of initial forms selection and the offspring analysis. There is a large amount of information in the literature about DNA markers of resistance genes. Their significant part was recommended for the use in marker-assisted breeding. The purpose of our work was to screen a collection of tomato varieties and hybrids using molecular markers of genes for resistance to the most common diseases of open-ground tomato (late blight, root nematodes, tomato bronzing virus (TSWV)) and to identify gene sources for breeding work. The following markers were selected for research: Sw-5-2 (*Sw-5b* gene of resistance to TSWV), Mi23 (*Mil.2* gene of resistance to the root-knot nematode), 2 markers NC-LB-9-78 and NC-LB-9-79 (late blight resistance gene *Ph-3*). During the work, a collection of 46 accessions of tomato cultivars and hybrids was analyzed. **Results.** The molecular genetic analysis has yielded clear, reproducible fragments that corresponded to the expected ones. All the used markers were codominant. Analysis of the studied collection accessions found the analyzed genes to be polymorphic. The cultivars and hybrids F<sub>1</sub> of tomato identified as promising for the use in breeding have resistance to root nematodes (F<sub>1</sub> hybrids: A-01, 'Imitator', 'Manon', cultivars 'Elegiya' and 'Buoy-Tur'), to tomato spotted wilt virus (TSWV) (F<sub>1</sub> hybrids: A-01, 'Manon' and cultivar 'Buoy-Tur'), and also to late blight (hybrids F<sub>1</sub>: A-01, 'Azhar', 'Barin', 'Vlastelin stepej', 'Zhirdyay', Luchshij SeDeK, 'Manon' and cultivars: 'Buoy-Tur', 'Zefir v shokolade', 'Zolotaya kaplya', 'Krasavec', 'Lodochka', 'Metelitsa', 'Alice's Dream', 'Sibirskij tigr', 'Slavyanskij shedevr', 'Elegiya'). It is advisable to use these accessions as sources of resistance genes. Based on the obtained data, five initial forms were selected for breeding and assessed for the intracultivar polymorphism of the studied genes. Cultivars 'Krasavec' and 'Sibirskij tigr' were used as parent forms. Their hybridization was carried out and hybrid forms homozygous for the dominant allele of the *Ph-3* gene were obtained. **Conclusions.** The use of molecular markers in the conducted study allowed screening the collection of tomato varieties and hybrids for the presence of resistance genes to the most common diseases. Based on the obtained data, parental pairs were selected, hybridization carried out, and hybrid forms with the late blight resistance gene obtained.

**Keywords:** marker-assisted selection, DNA marker, nematodes, tomato bronzing virus, *Phytophthora infestans*.**Acknowledgements:** the work was carried out within the framework of research No. 122021800376-2 of the Ministry of Higher Education and Science of the Russian Federation.**For citation:** Shamshin I.N., Ilyichev A.S., Fomicheva M.G., Grosheva E.V. A search for tomato disease resistance genes using molecular markers to create new genotypes. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2024;7(3):19-30. DOI: 10.30901/2658-6266-2024-3-01

Financial transparency: The authors have no financial interest in the presented materials or methods. The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work. The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employers.

© Shamshin I.N., Ilyichev A.S., Fomicheva M.G., Grosheva E.V., 2024

## Введение

Томат *Solanum lycopersicum* L. является одной из самых распространенных овощных культур в мире. Ежегодно выращивается около 170 млн тонн плодов томата. Они используются как для потребления в свежем виде, так и для переработки. Значительную долю продукции составляют томаты открытого грунта.

В сельскохозяйственном производстве томат выращивают как однолетнюю овощную культуру (Petrov et al., 2019). Для обеспечения высоких показателей урожайности возделываемые формы должны соответствовать ряду требований, одним из которых, является устойчивость к патогенам. Быстро меняющиеся климатические условия способствуют широкому распространению вредоносных заболеваний. На сегодняшний день установлено, что растения томата поражают порядка 200 вредителей и болезней (Shneyder et al., 2021). Для создания форм с комплексом ценных признаков требуется объединение в одном генотипе нескольких генов устойчивости. Успешному решению данной задачи способствует применение современных методов молекулярной генетики. Использование ДНК-маркеров позволяет значительно сократить сроки селекции.

Вирусные заболевания – ограничивающий фактор овощеводства. Защита растений от вирусных возбудителей болезней является самой трудной и основывается только на сочетании мер борьбы (Vabishchevich, 2021). Одним из наиболее опасных вирусов, поражающих томат, является вирус пятнистого увядания, или вирус бронзовости томата (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV). По различным данным возбудитель способен поражать от 271 до 900 видов растений. Заболевание проявляется в виде кольцевых пятнистостей, системного увядания, опадения цветков. Это приводит к угнетению растения и значительному снижению урожайности (Shneyder et al., 2021). Главным переносчиком возбудителя являются трипсы (Thysanoptera: Thripidae Stevens). На данный момент известно несколько генов резистентности (*Sw1a*, *Sw1b*, *Sw2*, *Sw3*, *Sw4*, *Sw-5*, *Sw-6* и *Sw-7*) (Shi et al., 2011), идентифицированных у различных дикорастущих видов томата (Soler et al., 2003). Однако устойчивость, обусловленная частью данных генов, считается преодоленной. Наибольшее значение для селекции представляет ген *Sw-5*. Это единственный доминантный ген, отвечающий за устойчивость к широкому спектру видов тосповирусов и действие которого еще не преодолено. Его наличие в генотипе способствует ограничению системного распространения заболевания у растения, поражаются лишь локальные зоны.

*Sw-5* находится внутри сложного кластера, состоящего из пяти связанных генов-паралогов, получивших названия от *Sw-5a* до *Sw-5e*. Эффективность каждой копии недостаточно ясна, но анализ отдельных копий в трансгенных растениях показал, что наибольшее фенотипическое проявление признака устойчивости характер-

но для *Sw-5b* (Dianese et al., 2010). Для идентификации гена *Sw-5* созданы различные типы молекулярных маркеров, такие как RFLP-маркеры CT71 и CT220 (Stevens et al., 1995), маркеры RAPD (Chagué et al., 1996), SSR-маркеры (Pidigam et al., 2021), SCAR-маркеры (Chagué et al., 1996; Nascimento et al., 2009), CAPS-маркеры (Garland et al., 2005, Panthee et al., 2013), а также маркеры In-Del (Dianese et al., 2010) и SNP-маркеры (Shi et al., 2011, Lee et al., 2015). Наиболее распространенным является маркер *Sw-5-2*, который применяют в селекционной работе (Han et al., 2012, Basim et al., 2019).

Другим важным фактором снижения урожайности у томата являются различные виды нематод. Одним из них является корневая нематода (*Meloidogyne Goeldi*). Основным признаком поражения томатов данным вредителем – наличие корневых вздутий, внутри которых находятся личинки и яйца нематод. Они препятствуют образованию новых корней, уменьшают всасывающую поверхность, что приводит к отставанию растений в росте, снижению количества и качества плодов. Недобор урожая при этом составляет от 30 до 50%. Борьба с галловыми нематодами затруднена из-за их высокой пластичности. При благоприятных погодных условиях они могут давать до 8 поколений в год (Dolmatov, 2005).

Устойчивость томата к корневым нематодам впервые выявлена у дикорастущего вида *Solanum peruvianum* L. Установлено, что данный признак контролируется генами семейства *Mi* (*Mi-1*, *Mi-2*, *Mi-3*, *Mi4*, *Mi-5*, *Mi-6*, *Mi-7*, *Mi-8*, *Mi-9*, и *Mi-Ht*). В селекции наиболее часто используют ген *Mi-1*, локализованный на хромосоме 6. Он обеспечивает устойчивость к трем основным видам корневых нематод, поражающих томат: *M. arenaria* Neal, *M. incognita* Kofoid & White и *M. javanica* Treub (Reddy et al., 2018).

Первоначально для идентификации гена *Mi-1* томата применяли изоферментные маркеры, например *Aps-1* (Tanksley et al., 1982). Однако более достоверные результаты удалось получить благодаря ДНК-маркерам. Были разработаны различные CAPS-маркеры. Наиболее широко из данного типа маркеров использовался маркер *Rex-1* гена *Mi-1* (Williamson et al., 1994). Однако дальнейшие исследования показали, что он дает ложноположительные результаты (El Mehrach et al., 2005). Это послужило основой для поиска более надежных маркеров для ускоренного отбора устойчивых форм. Наиболее успешно зарекомендовали себя кодоминантные маркеры SCAR, например, маркер *Mi23* (Seah et al., 2007, Panthee et al., 2015, Devran et al., 2016). В 2016 году на основе этого маркера был разработан и успешно апробирован KASP-маркер гена *Mi1.2* (Devran et al., 2016).

Для томата открытого грунта наибольший ущерб наносят грибные болезни. Одной из самых распространенных является фитофтороз. Его возбудитель *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary поражает все части растения. Основные симптомы заболевания – образование водянистых некрозов бурого цвета на листьях, стебле

и плодах томата. Поражение может появляться на протяжении всего вегетационного периода. Борьба с возбудителем является очень сложной в связи с высоким уровнем его генетической изменчивости, что связано с наличием полового размножения. Известны несколько рас фитотторы. Часть изолятов достаточно агрессивна и обладает устойчивостью к высокоэффективным фунгицидам (Park et al., 2013).

Генетическая устойчивость к фитотторозу вызывает интерес на протяжении многих лет. Впервые гены устойчивости были обнаружены у дикорастущего вида томата *S. pimpinellifolium* L. Предполагают наличие пяти генов устойчивости. В селекционной работе наиболее распространенными являются гены *Ph-1*, *Ph-2* и *Ph-3*. Ген *Ph-1*, локализованный на хромосоме 7, обеспечивает устойчивость к расе T0 возбудителя. Однако действие его было преодолено относительно быстро новой расой T1. Частичную устойчивость к отдельным изолятам этой расы обеспечивает ген *Ph-2*, локализованный на хромосоме 10. Он способствует остановке развития заболевания, но полную устойчивость не дает (Panthee et al., 2015).

Высокий уровень устойчивости к возбудителю фитоттороза показывают растения томата с геном *Ph-3*. Ген впервые картирован на хромосоме 9 у *S. pimpinellifolium* L3708. Этот ген в доминантном гомозиготном состоянии обеспечивает устойчивость к болезни в регионах с относительно простой структурой популяции возбудителя. Он кодирует CC-NBS-LRR (coiled-coil-nucleotide-binding-site-leucine-rich repeat) – белок, который принадлежит к обширному классу NBS-LRR растительных R-генов. Однако в отдельных случаях его действие преодолевается местными агрессивными изолятами фитотторы (Nowicki et al., 2012). Сообщалось также о расовых неспецифических генах, обеспечивающих умеренную и длительную устойчивость к целому ряду изолятов (Park et al., 2013). Наибольшую степень защиты от болезни дает объединение в одном генотипе нескольких генов устойчивости, например *Ph-2* и *Ph-3* (Panthee et al., 2015).

С целью идентификации генов устойчивости к фитотторозу был проведен поиск ДНК-маркеров для применения в селекционной работе. Значительная часть исследований была сосредоточена на создании кодоминантных SCAR (Park et al., 2013, Zhang et al., 2013, Truong et al., 2013, Ren et al., 2019) и CAPS-маркеров (Wang et al.,

2016). Благодаря им были созданы новые формы томата с несколькими генами устойчивости к фитотторозу (Panthee et al., 2015). Использование молекулярных маркеров дает возможность пирамидирования генов резистентности к различным возбудителям болезней в короткие сроки. На сегодняшний день создано большое количество ДНК-маркеров. Многие из них успешно применяются для анализа исходных форм и гибридного потомства.

Целью нашей работы был скрининг коллекции сортов и гибридов томата с использованием молекулярных маркеров генов устойчивости к наиболее распространенным болезням томата открытого грунта (фитоттороз, корневые нематоды, вирус бронзовости) и идентификация источников генов для селекционной работы.

## Материалы и методы

Работа выполнена на базе лаборатории молекулярно-генетического анализа плодовых растений Мичуринского ГАУ. Биологическими объектами исследования были 46 сортов и гибридов томата из коллекции университета (табл. 2). В качестве положительного контроля устойчивости к вирусу бронзовости томата и галловой нематоды использовали гибрид F<sub>1</sub> томата ‘Манон’. Для контроля устойчивости к фитотторозу использовали сорт ‘Красавец’ селекции Мичуринского ГАУ.

Экстрагирование ДНК проводили из молодых листьев томата с использованием набора «Проба-НК» (Агродиагностика, Россия) в соответствии с протоколом производителя.

Для работы были использованы молекулярные маркеры генов устойчивости: к вирусу бронзовости (TSWV) Sw-5-2 (Dianese et al., 2010) (ген *Sw-5b*), к галловой нематоды Mi23 (Seah et al., 2007) (ген *Mil.2*), два маркера NC-LB-9-78 и NC-LB-9-79 (Panthee et al., 2015) гена устойчивости к фитотторозу *Ph-3*.

Для подбора родительских пар была проведена оценка внутрисортного полиморфизма части коллекционных образцов. Для работы были отобраны пять сортов: ‘Красавец’, ‘Буй-Тур’, ‘Сибирский тигр’, ‘Сокол’, ‘Орлик’. Проанализировано по 10 растений томата каждого сорта с маркерами Mi23, Sw-5-2, NC-LB-9-6678.

Нуклеотидные последовательности используемых праймеров приведены в таблице 1.

**Таблица 1. Нуклеотидные последовательности праймеров, используемых в работе**

**Table 1. The nucleotide sequences of the primer pairs used in the work**

Название маркера/ Marker name	Последовательность прямого праймера/ Forward primer sequence (5'→3')	Последовательность обратного праймера/ Reverse primer sequence (5'→3')
Sw-5-2	AATTAGGTTCTTGAAGCCCATCT	TCCGCATCAGCCAATAGTGT
Mi23	TGGAAAAATGTTGAATTTCTTTTG	GCATACTATATGGCTTGTTTACCC
NC-LB-9-6678	CCTTAATGCAATAGGCAAAAT	ATTTGAATGTTCTGGATTGG
NC-LB-9-6679	TCGGCTTATAGAAAAGCAAC	CGGAGAACAGTTTGAACATC

Реакционная смесь для ПЦР со всеми праймерами объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTP, 2,5 мМ MgSO<sub>4</sub>, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Таq-полимеразы и стандартный ПЦР-буфер. Реакцию с использованием соответствующих пар праймеров (см. табл. 1) проводили по следующим программам для исследуемых маркеров:

**Sw-5-2** – 3 мин 94°C, 35 циклов [30 с 94°C, 1 мин 50°C, 30 с 72°C], 5 мин 72°C;

**Mi23** – 5 мин 95°C, 35 циклов [20 с 95°C, 20 с 62°C, 30 с 72°C], 2 мин 72°C;

**NC-LB-9-6678** и **NC-LB-9-6679** – 3 мин 92°C, 35 циклов [30 с 92°C, 1 мин 52°C, 30 с 72°C], 8 мин 72°C.

Продукты амплификации разделяли путем электрофореза в 2% агарозном геле. После электрофореза гель окрашивали бромистым этидием и анализировали в ультрафиолетовом свете с использованием трансиллюминатора ЕТХ-F26.М (Vilber Lourmat, Франция).

## Результаты

Для поиска источников генов устойчивости томата к вирусу бронзовости, к корневой нематоды и фитофторозу были проанализированы образцы 46 сортов и гибридов (см. табл. 2).

**Таблица 2. Сорта и гибриды томата, отобранные для анализа, и данные о разнообразии генов устойчивости**

**Table 2. Tomato cultivars and hybrids selected for the analysis and the resistance gene diversity data**

№	Название сорта или гибрида/ The name of cultivar or hybrid	Маркеры генов устойчивости/ Resistance gene markers							
		Mi23		Sw-5-2		NC-LB-9-6678		NC-LB-9-6679	
		R* 380 **	S 430	R 574	S 464	R 600	S 900	R 1000	S 1200
1	‘Морковный’	-	+	-	+	-	+	-	+
2	‘Шанс’ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
3	‘Сибирский скороспелый’	-	+	-	+	-	+	-	+
4	‘Джина’	-	+	-	+	-	+	-	+
5	Лучший СеДеК (F1)	-	+	-	+	+	+	+	+
6	‘Барин’ (F1)	-	+	-	+	+	+	+	+
7	‘Тимофеич’	-	+	-	+		+	-	+
8	‘Черная груша’	-	+	-	+		+	-	+
9	‘Жирдяй’ (F1)	-	+	-	+	+	+	+	+
10	‘Имитатор’ (F1)	+		-	+		+	-	+
11	‘Славянский шедевр’	-	+	-	+	+		+	
12	‘Волгоградский’ штамбовый	-	+	-	+	-	+	-	+
13	‘Золотая капля’	-	+	-	+	+		+	
14	‘Элегия’	+	+	-	+	+	+	+	+
15	‘Тамерлан’ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
16	‘Благородный принц’	-	+	-	+	-	+	-	+
17	‘Черный мавр’	-	+	-	+	-	+	-	+
18	‘Элтон Джон’ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
19	‘Лодочка’	-	+	-	+	+		+	
20	‘Глаша’	-	+	-	+	-	+	-	+
21	‘Мечта Алисы’/ ‘Alice's Dream’	-	+	-	+	+		+	
22	‘Черное сердце Америки’/ ‘American black heart’	-	+	-	+	-	+	-	+
23	‘Синяя груша’	-	+	-	+	-	+	-	+
24	‘Белле’/‘Belle’ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
25	‘Японский краб’	-	+	-	+	-	+	-	+
26	‘Сибирский тигр’	-	+	-	+	+		+	
27	‘Золотой Кенигсберг’	-	+	-	+	-	+	-	+
28	‘Метелица’	-	+	-	+	+		+	

№	Название сорта или гибрида/ The name of cultivar or hybrid	Маркеры генов устойчивости/ Resistance gene markers							
		Mi23		Sw-5-2		NC-LB-9-6678		NC-LB-9-6679	
		R* 380 **	S 430	R 574	S 464	R 600	S 900	R 1000	S 1200
29	‘Итальянские спагетти’	-	+	-	+	-	+	-	+
30	‘Дар Заволжья’	-	+	-	+	-	+	-	+
31	‘Оранжевые сливки’	-	+	-	+	-	+	-	+
32	‘Рио-Гранде’	-	+	-	+	-	+	-	+
33	‘Зефир в шоколаде’	-	+	-	+	+	+	+	+
34	Карнобель (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
35	Ш-03 (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
36	A-01 (F1)	+	+	+	+	+	+	+	+
37	ШМ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
38	‘Непас 9’	-	+	-	+	+	-	+	-
39	‘Властелин степей’ (F1)	-	+	-	+	+	-	+	-
40	‘Ажур’ (F1)	-	+	-	+	+	+	+	+
41	‘Катенька’ (F1)	-	+	-	+	-	+	-	+
42	‘Орлик’	-	-	-	-	-	-	-	-
43	‘Сокол’	-	-	-	-	-	-	-	-
44	‘Буй-Тур’	+	-	+	-	+	-	+	-
45	‘Манон’ (F1)	+	+	+	+	+	+	+	+
46	‘Красавец’	-	+	-	+	+	-	+	-

**Примечания:**

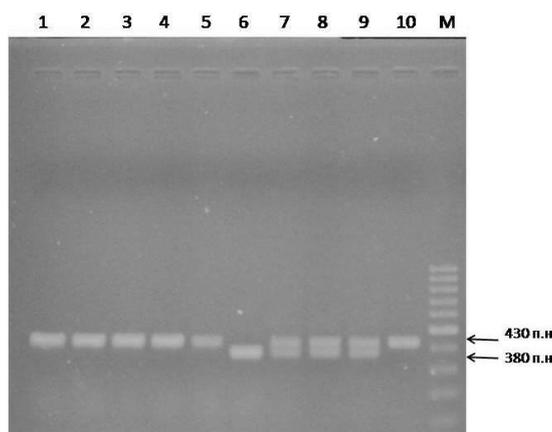
\*R (от англ. resistance) – маркер аллеля устойчивости, ;

S (от англ. susceptibility) – маркер аллеля восприимчивости; \*\* – размер фрагмента в парах нуклеотидов (пн)  
«+» – наличие фрагмента, «-» – отсутствие фрагмента, отсутствие «+» или «-» – нет данных

Для идентификации гена *Mil.2* устойчивости к корневой нематоды был использован кодоминантный SCAR маркер Mi23. Он позволяет выявить два фрагмента размером 380 пн и 430 пн. Наличие фрагмента 380 пн характерно для устойчивых образцов и свидетельствует о присут-

ствии доминантного аллеля гена (Seah et al., 2007).

Фрагмент размером 380 пн был выявлен у четырех образцов – у гибридов F<sub>1</sub> – A-01, ‘Имитатор’, ‘Манон’, а также у сортов ‘Элегия’ и ‘Буй-Тур’ (рис. 1) (см. табл. 2).



**Рис. 1. Результаты идентификации гена *Mil.2* у образцов гибридов F<sub>1</sub> и сортов томата**  
1 – ‘Морковный’, 2 – ‘Шанс’, 3 – ‘Сибирский скороспелый’, 4 – ‘Джина’, 5 – ‘Дар Заволжья’,  
6 – ‘Имитатор’, 7 – ‘Элегия’, 8 – A-01, 9 – ‘Манон’,  
10 – ‘Черный мавр’, М – маркер размера фрагментов ДНК (шаг 100 пн)

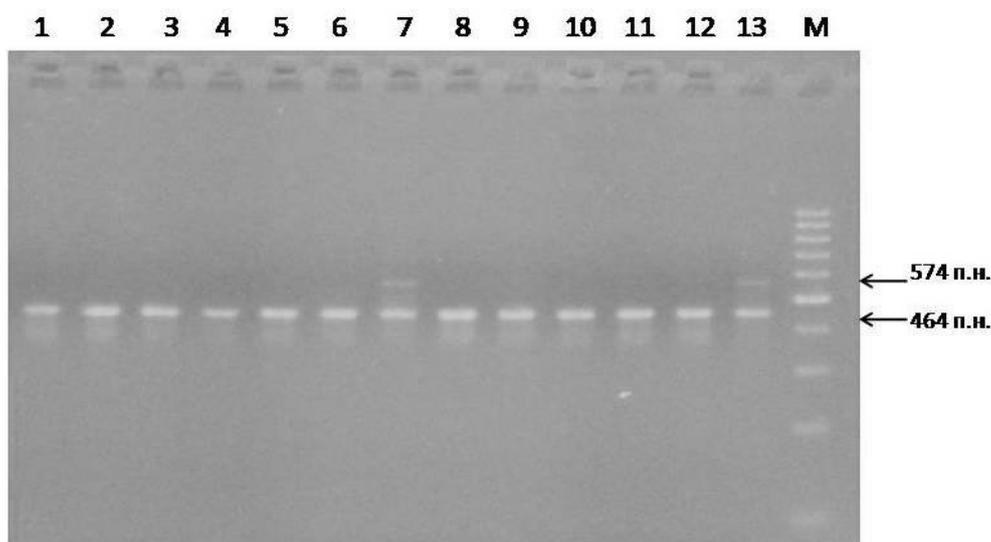
**Fig. 1. Results of the *Mil.2* gene identification in tomato F<sub>1</sub> hybrid and cultivar accessions**  
1 – ‘Morkovnyj’, 2 – ‘Shans’, 3 – ‘Sibirskij skorospelyj’, 4 – ‘Dzhina’, 5 – ‘Dar Zavolzh'ya’, 6 – ‘Imitator’,  
7 – ‘Elegiya’, 8 – A-01, 9 – ‘Manon’, 10 – ‘Chernyj mavr’, M – DNA fragment size marker (step 100 bp)

При этом 'Имитатор' и 'Буй-Тур' являются доминантными гомозиготами, так как у них идентифицирован только фрагмент 380 пн. Остальные образцы имели оба фрагмента и, следовательно, были гетерозиготами по гену *Mil.2* устойчивости к корневой нематоды. Большая часть образцов имела только рецессивный аллель (см. табл. 2).

Для определения сочетания аллелей гена *Sw-5* устойчивости к вирусу бронзовости томата был применен маркер *Sw-5-2*. При проведении ПЦР с использованием праймеров для этого маркера синтезируются три фраг-

мента размером 574 пн, 510 пн и 464 пн. Первый фрагмент характерен для устойчивых образцов, второй и третий фрагменты – для восприимчивых (Dianese et al., 2010).

Анализ результатов амплификации показал наличие двух из трех ожидаемых фрагментов. Фрагмент размером 574 пн идентифицирован у трех образцов – гибрида А-01, сорта 'Буй-Тур' и контрольного образца 'Манон' (см. табл. 2). Остальные образцы имели фрагмент размером 464 пн (рис. 2).



**Рис. 2. Результаты идентификации гена *Sw-5* у гибридов  $F_1$  и сортов томата**  
1 – 'Дар Заволжья', 2 – 'Оранжевые сливки', 3 – 'Рио-Гранде', 4 – 'Зефир в шоколаде',  
5 – Карнобель, 6 – Ш-03, 7 – А-01, 8 – Ш/1, 9 – 'Непас 9', 10 – 'Властелин степей', 11 – 'Ажур',  
12 – 'Катенька', 13 – 'Манон', М – маркер размера фрагментов ДНК (шаг 100 пн)

**Fig. 2. Results of the *Sw-5* gene identification in tomato  $F_1$  hybrids and cultivars**  
1 – 'Dar Zavolzh'ya', 2 – 'Oranzhevye slivki', 3 – 'Rio-Grande', 4 – 'Zefir v shokolade',  
5 – Karnobel, 6 – SH-03, 7 – A-01, 8 – SH/1, 9 – 'Nepas 9', 10 – 'Vlastelin stepej', 11 – 'Azhur',  
12 – 'Katen'ka', 13 – 'Manon', M – DNA fragment size marker (step 100 bp)

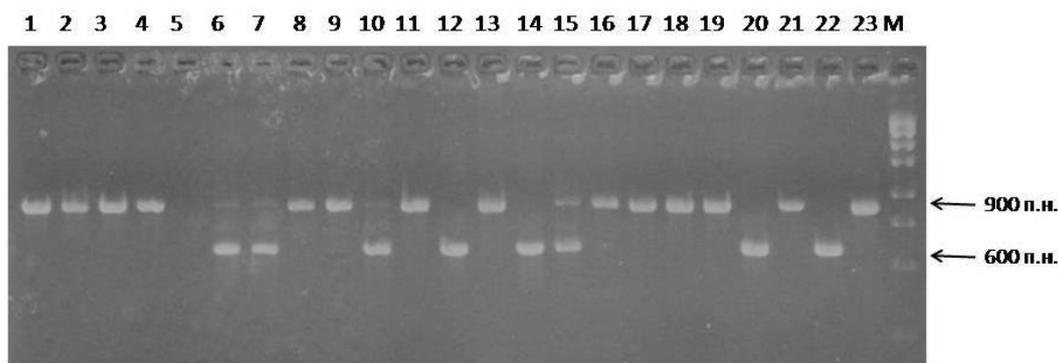
Для идентификации устойчивости коллекционных образцов томата к фитофторозу использовали маркеры NC-LB-9-6678 и NC-LB-9-6679. Оба маркера позволяют идентифицировать ген *Ph-3*.

В результате анализа с использованием праймеров для маркера NC-LB-9-6678 были выявлены два фрагмента размером 600 пн и 900 пн, что соответствует ожидаемому результату (Panthee et al., 2015). Для устойчивого образца характерно наличие фрагмента 600 пн, а для восприимчивого – 900 пн (рис. 3).

Среди анализируемых коллекционных образцов отме-

чены гетерозиготные образцы (8), доминантные гомозиготные формы (12), а также рецессивные гомозиготы (24) (см. табл. 2). Фрагмент, соответствующий аллелю устойчивости, в гомозиготном состоянии идентифицирован у контрольного образца – сорта 'Красавец'.

Для уточнения результатов о наличии гена *Ph-3* у коллекционных образцов томата был использован второй ДНК-маркер NC-LB-9-6679. В результате электрофоретической разгонки продуктов амплификации получены фрагменты с ожидаемым размером 1000 пн (устойчивый аллель) и 1200 пн (восприимчивый аллель) (рис. 4).

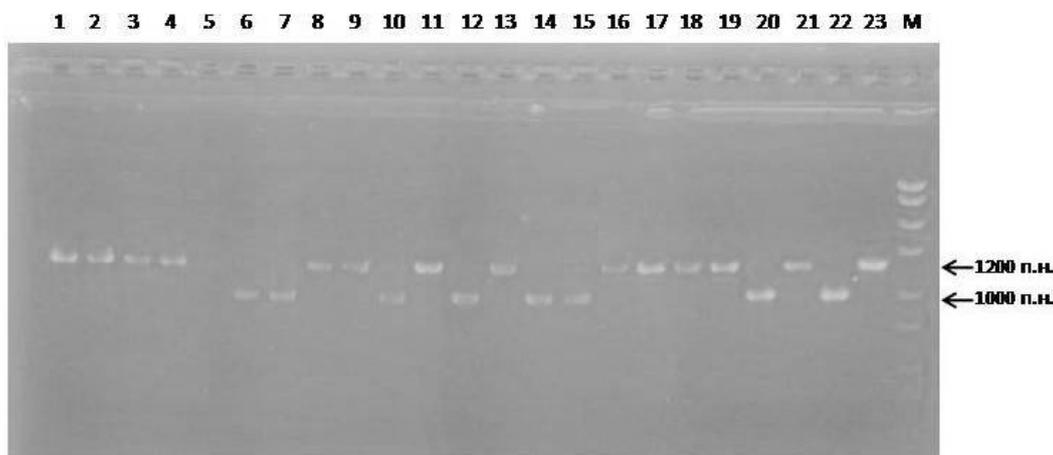


**Рис. 3. Результаты идентификации гена *Ph-3* у образцов гибридов  $F_1$  и сортов томата с использованием маркера NCLB-9-6678**

1 – ‘Морковный’, 2 – ‘Шанс’, 3 – ‘Сибирский скороспелый’, 4 – ‘Джина’, 5 – ‘Дар Заволжья’, 6 – Лучший СеДеК, 7 – ‘Барин’, 8 – ‘Тимофеич’, 9 – ‘Черная груша’, 10 – ‘Жирдяй’, 11 – ‘Имитатор’, 12 – ‘Славянский шедевр’, 13 – ‘Волгоградский’ штamboвый, 14 – ‘Красавец’, 15 – ‘Элегия’, 16 – ‘Тамерлан’, 17 – ‘Благородный принц’, 18 – ‘Черный мавр’, 19 – ‘Элтон Джон’, 20 – ‘Лодочка’, 21 – ‘Глаша’, 22 – ‘Мечта Алисы’, 23 – ‘Черное сердце Америки’, М – маркер размера фрагментов ДНК (минимальный размер фрагмента 250 пн)

**Fig. 3. Results of the *Ph-3* gene identification in tomato  $F_1$  hybrid and cultivar accessions using the marker NCLB-9-6678**

1 – ‘Morkovnyj’, 2 – ‘Shans’, 3 – ‘Sibirskij skorospelyj’, 4 – ‘Dzhina’, 5 – ‘Dar Zavolzh'ya’, 6 – Luchshij SeDeK, 7 – ‘Barin’, 8 – ‘Timofeich’, 9 – ‘Chernaya grusha’, 10 – ‘Zhirdyay’, 11 – ‘Imitator’, 12 – ‘Slavyanskij shedevr’, 13 – ‘Volgogradskij’ shtambovyj, 14 – ‘Krasavec’, 15 – ‘Elegiya’, 16 – ‘Tamerlan’, 17 – ‘Blagorodnyj princ’, 18 – ‘Chernyj mavr’, 19 – ‘Elton Dzhon’, 20 – ‘Lodochka’, 21 – ‘Glasha’, 22 – ‘Alice's Dream’, 23 – ‘Chernoje serdce Ameriki’, M – DNA fragment size marker (minimum fragment size 250 bp).



**Рис. 4. Результаты идентификации гена *Ph-3* у образцов гибридов  $F_1$  и сортов томата с использованием маркера NCLB-9-6679**

1 – ‘Морковный’, 2 – ‘Шанс’, 3 – ‘Сибирский скороспелый’, 4 – ‘Джина’, 5 – ‘Дар Заволжья’, 6 – Лучший СеДеК, 7 – ‘Барин’, 8 – ‘Тимофеич’, 9 – ‘Черная груша’, 10 – ‘Жирдяй’, 11 – ‘Имитатор’, 12 – ‘Славянский шедевр’, 13 – ‘Волгоградский’ штamboвый, 14 – ‘Красавец’, 15 – ‘Элегия’, 16 – ‘Тамерлан’, 17 – ‘Благородный принц’, 18 – ‘Черный мавр’, 19 – ‘Элтон Джон’, 20 – ‘Лодочка’, 21 – ‘Глаша’, 22 – ‘Мечта Алисы’, 23 – ‘Черное сердце Америки’, М – маркер размера фрагментов ДНК (минимальный размер фрагмента 250 пн)

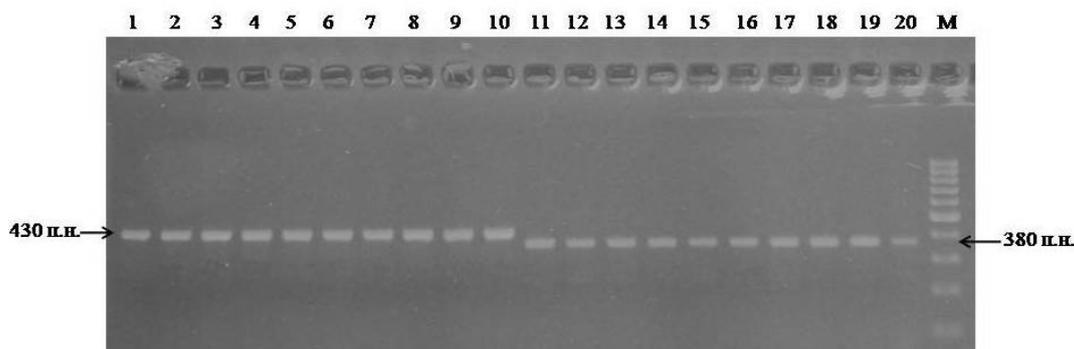
**Fig. 4. Results of the *Ph-3* gene identification in tomato  $F_1$  hybrid and cultivar accessions using the marker NCLB-9-6679**

1 – ‘Morkovnyj’, 2 – ‘Shans’, 3 – ‘Sibirskij skorospelyj’, 4 – ‘Dzhina’, 5 – ‘Dar Zavolzh'ya’, 6 – Luchshij SeDeK, 7 – ‘Barin’, 8 – ‘Timofeich’, 9 – ‘Chernaya grusha’, 10 – ‘Zhirdyay’, 11 – ‘Imitator’, 12 – ‘Slavyanskij shedevr’, 13 – ‘Volgogradskij’ shtambovyj, 14 – ‘Krasavec’, 15 – ‘Elegiya’, 16 – ‘Tamerlan’, 17 – ‘Blagorodnyj princ’, 18 – ‘Chernyj mavr’, 19 – ‘Elton Dzhon’, 20 – ‘Lodochka’, 21 – ‘Glasha’, 22 – ‘Alice's Dream’, 23 – ‘Chernoje serdce Ameriki’, M – DNA fragment size marker (minimum fragment size 250 bp)

Проведена оценка внутрисортного полиморфизма сортов ‘Красавец’, ‘Буй-Тур’, ‘Сибирский тигр’, ‘Сокол’, ‘Орлик’.

Результаты анализа электрофоретических спектров продуктов ПЦР с маркером Mi23 гена *Mil.2* устойчивости к нематодам показали, что все десять растений сортов

‘Сокол’, ‘Красавец’, ‘Сибирский тигр’ и ‘Орлик’ являются рецессивными гомозиготными формами и не имеют фрагмента размером 380 п.н., соответствующего доминантному аллелю устойчивости. Исключение составляет сорт ‘Буй-Тур’, который гомозиготен по доминантному аллелю (рис. 5).



**Рис. 5. Результаты оценки внутрисортного полиморфизма сортов томата ‘Красавец’ и ‘Буй-Тур’ по гену *Mil.2***

1-10 – образцы сорта ‘Красавец’, 11-20 – образцы сорта ‘Буй-Тур’, М – маркер размера фрагментов ДНК (шаг 100 п.н).

**Fig. 5. The results of the intracultivar *Mil.2* gene polymorphism assessment in tomato cultivars ‘Krasavec’ and ‘Buoy-Tour’**

1-10 – cv. ‘Krasavec’ specimens, 11-20 cv. ‘Buoy-Tur’ specimens, M – DNA fragment size marker (step 100 bp).

Аналогичная картина наблюдается при анализе полиморфизма по гену *Sw-5b* устойчивости к вирусу бронзовости томата. Четыре сорта – ‘Сокол’, ‘Красавец’, ‘Орлик’, ‘Сибирский тигр’ – мономорфны и являются гомозиготными по рецессивному аллелю, имеют только фрагмент 464 п.н. У сорта ‘Буй-Тур’ идентифицирован только фрагмент 574 п.н, что говорит о его гомозиготности по доминантному аллелю.

Для анализа сортов селекции Мичуринского ГАУ по гену устойчивости к фитофторозу *Ph-3* был использован маркер NC-LB-9-6678. Совпадение результатов по маркерам NC-LB-9-6678 и NC-LB-9-6679, выявленное при анализе коллекционных образцов, подтверждает возможность использования только одного из маркеров. В результате проведенной работы показано, что у сортов ‘Сибирский тигр’, ‘Красавец’, ‘Буй-Тур’ и ‘Сокол’ идентифицирован только фрагмент, соответствующий аллелю устойчивости. У сорта ‘Орлик’ выявлен фрагмент размером 900 п.н, что говорит о том, что он является рецессивной гомозиготой (рис. 6).

Для создания сорта томата с устойчивостью к фитофторозу, обладающего штамбовым типом куста и антоциановой окраской плодов было проведено скрещивание сортов ‘Красавец’ и ‘Сибирский тигр’, являющихся доминантными гомозиготами по гену *Ph-3*.

В результате проведенной гибридизации были получены гибридные формы. Для молекулярного анализа были отобраны 20 растений и проанализированы с использо-

ванием маркера NC-LB-9-6678. Установлено, что все анализируемые растения имеют только доминантный аллель в гомозиготном состоянии.

### Обсуждение

Полученные в ходе работы результаты позволили оценить коллекцию сортов и гибридов томата. С использованием молекулярных маркеров выявлены источники генов ценных признаков. Все применённые в работе маркеры ранее были использованы для анализа различных коллекций сортов и гибридов томата. Например, маркер Mi23 является одним из часто используемых маркеров для определения наличия гена *Mil.2*. С его помощью анализируют гибриды и линии томата, что говорит о его эффективности (Seah et al., 2007; Devran et al., 2016; Basim et al., 2019; Kaur et al., 2019; Shihab et al., 2019). Ген *Mil.2* часто используют в селекционной работе, он характеризует многие образцы в коллекциях томата (Kaur et al., 2019; El-Sappah et al., 2022). В сравнении с другими маркерами Mi23 показывает стабильные результаты и способен выявлять полиморфизм. Установлено, что в нашей коллекции доминантный аллель гена устойчивости *Mil.2* выявлен только у четырех образцов из изученных 46.

Маркер Sw-5-2 также показал возможность выявления в коллекции полиморфизма по гену *Sw-5* устойчивости к вирусу бронзовости. С его помощью возможно провести оценку образцов томата на наличие гомозиготных

форм как по доминантному, так и по рецессивному аллелю, равно как и гетерозигот. Такие результаты получены корейскими исследователями при изучении коллекции из 94 образцов томата (Han et al., 2012). Аналогичные результаты получены в работе Н. Basim и коллег (Basim et al., 2019) Проведена апробация данного маркера и на дикорастущих видах. Более 10 видов томата исследованы с использованием молекулярных маркеров и методом искусственного заражения. В результате отмечено совпадение данных по наличию маркера и признака у образцов (Mahfouze et al., 2022). Однако ряд работ показал, что не всегда наличие данного маркера совпадает с наличием устойчивости. Часть растений, у которых маркер свидетельствовал о наличии аллеля устойчивости, были поражены возбудителем. При этом есть данные, свидетельствующие о том, что работа гена *Sw-5* устойчивости к вирусу бронзовости зависит от температуры внешней среды. При температуре выше 28°C проявление его действия ослабевает и на растении наблюдаются признаки поражения. Также предполагается наличие новых форм возбудителей, способных преодолевать действие гена *Sw-5* (Kabaş et al., 2021). В проводимых нами исследованиях мы опирались на маркерный анализ. Работу по оценке устойчивости при искусственном заражении не проводили, что связано со статусом карантинного объекта вируса бронзовости. У контрольного образца – гибрида F<sub>1</sub> ‘Манон’ идентифицирован аллель устойчивости. Кроме контрольного образца он выявлен лишь у гибрида F<sub>1</sub> А-01 селекции Института сельского хозяйства Крыма и сорта ‘Буй-Тур’ селекции Мичуринского ГАУ. Все остальные образцы имеют только аллель восприимчивости, то есть у большинства образцов анализируемой коллекции аллель устойчивости отсутствует.

Используемые в данном исследовании маркеры NC-LB-9-6678 и NC-LB-9-6679 были успешно использованы другими авторами. Так, в работе О.Г. Бабак и коллег (Babak et al., 2021) данные маркеры были апробированы на коллекции томата, в том числе гибридных линиях из различных научных учреждений Республики Беларусь. Были выделены источники генов устойчивости к фитофторозу, на основе которых созданы новые селекционные формы томата. В исследованиях В.В. Мартынова и коллег (Martynov et al., 2022) также был использован маркер NC-LB-9-6678.

В качестве контрольного образца в наших исследованиях был выбран районированный сорт селекции Мичуринского ГАУ ‘Красавец’, который на протяжении ряда лет проявлял высокую устойчивость к фитофторозу на естественном фоне. Оба маркера NC-LB-9-6678 и NC-LB-9-6679 показали наличие у данного сорта гена в доминантном гомозиготном состоянии. Доминантный аллель гена устойчивости оказался наиболее распространенным в исследуемой коллекции. В гомозиготном доминантном состоянии он обнаружен у 12 из 46 образцов, а в гетерозиготном состоянии у 8 образцов. Вероятно, это связано с продолжительной селекционной работой по

созданию устойчивых к фитофторозу форм томата.

Таким образом, была произведена оценка распространения аллелей генов устойчивости в коллекционных образцах томата, что позволило провести отбор источников гена устойчивости для последующего использования в гибридизации. В Мичуринском ГАУ на протяжении ряда лет ведется работа по созданию новых сортов томата со штамбовым типом куста, антоциановой окраской и устойчивостью к грибным болезням. В качестве потенциальных исходных форм из анализируемой коллекции были отобраны сорта ‘Буй-Тур’, ‘Сокол’, ‘Орлик’, ‘Красавец’ в качестве источника штамбового типа растения и сорт ‘Сибирский тигр’ как источник антоциановой окраски. Все сорта были проанализированы с использованием молекулярных маркеров для определения генетической однородности по признакам устойчивости. Установлено, что сорта ‘Красавец’, ‘Буй-Тур’ и ‘Сибирский тигр’ являются гомозиготами по доминантному аллелю гена *Ph-3*. При этом сорт ‘Буй-Тур’ гомозиготен по доминантному аллелю генов *Mil.2* и *Sw-5b*. Однако сравнение типов куста сортов ‘Красавец’ и ‘Буй-Тур’ показало, что у второго сорта он не соответствует предъявляемым требованиям, а именно имеет более раскидистый куст и склонен к полеганию при высокой урожайности. У сорта ‘Красавец’ куст компактный, мощный, не склонный к полеганию. Поэтому в качестве родительских форм были использованы сорта ‘Красавец’ и ‘Сибирский тигр’. Ожидается, что все полученное потомство должно быть гомозиготным по доминантному аллелю гена *Ph-3*.

От комбинации скрещивания ‘Красавец’ × ‘Сибирский тигр’ получены гибридные растения. Для их оценки было отобрано 20 растений, которые были проанализированы с использованием маркера NC-LB-9-6678. Установлено, что все образцы имели только доминантный аллель гена устойчивости *Ph-3*, что соответствует ожидаемому результату.

## Заключение

В ходе исследований проведена оценка коллекции сортов и гибридов томата с использованием молекулярных маркеров генов устойчивости к почвенным нематодам, вирусу бронзовости томата и фитофторозу. С использованием маркера Mi23 (ген *Mil.2* устойчивости к корневой нематоде) выявлены источники гена ценного признака, а именно гибриды F<sub>1</sub> А-01, ‘Имитатор’, ‘Манон’, а также сорта ‘Элегия’ и ‘Буй-Тур’. Источниками гена устойчивости к вирусу бронзовости являются гибриды А-01, ‘Манон’ и сорт ‘Буй-Тур’. Использование двух маркеров гена *Ph-3* устойчивости к фитофторозу показало аналогичные результаты и позволило идентифицировать аллель устойчивости у образцов гибридов F<sub>1</sub> А-01, ‘Ажур’, ‘Барин’, ‘Властелин степей’, ‘Жирдяй’, Лучший СеДеК, ‘Манон’ и сортов ‘Буй-Тур’, ‘Зефир в шоколаде’, ‘Золотая капля’, ‘Красавец’, ‘Лодочка’, ‘Метелица’, ‘Мечта Алисы’, ‘Сибирский тигр’, ‘Славян-

ский шедевр', 'Элегия'.

На основании полученных данных отобраны пять исходных форм для селекции. Проведена оценка их внутрисортного полиморфизма по исследуемым генам. Проведено скрещивание сортов 'Красавец' и 'Сибирский тигр', получены гибридные формы, гомозиготные по доминантному аллелю гена *Ph-3*.

## References/Литература

- Babak O.G., Drozd E.V., Nekrashevich N.A., Anisimova N.V., Yatevich K.K., Bayeva I.E., Pugachova I.G., Frantsuzionak A.V., Dobrodin M.M., Kilchevsky A.V. Assessment and application of molecular markers in breeding for the resistance of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) to late blight (*Phytophthora infestans*). *Molecular and applied genetics*. 2021;31:22-30. [in Russian] (Бабак О.Г., Дрозд Е.В., Некрашевич Н.А., Анисимова Н.В., Яцевич К.К., Баева И.Е., Пугачева И.Г., Французенок А.В., Добродькин М.М., Кильчевский А.В. Оценка и применение молекулярных маркеров в селекции на устойчивость томата (*Solanum lycopersicum* L.) к фитофторе (*Phytophthora infestans*) Молекулярная и прикладная генетика. 2021;31:22-30). DOI: 10.47612/1999-9127-2021-31-22-30
- Dolmatov D.A. Protection of tomato and cucumber crops from root-knot nematodes in protected ground conditions (Zashchita kul'tury tomata i ogurtsa ot gallovykh nematod v usloviyakh zakrytogo grunta). *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Agrarian Sciences Series*. 2005;5:123-124. [in Russian] (Долматов Д.А. Защита культуры томата и огурца от галловых нематод в условиях закрытого грунта. *Весты Национальной Академии Наук Беларуси. Серия аграрных наук*. 2005;5:123-124).
- Basim H., Turgut K., Kaplan B., Basim E., Turgut A. The potential application of *Origanum dubiumboiss* essential oil as a seed protectant against bean and tomato seed-borne bacterial pathogens. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*. 2019;18(3):79-86. DOI: 10.24326/asphc.2019.3.8
- Chagué V., Mercier J.C., Guénard M., De Courcel A., Vedel F. Identification and mapping on chromosome 9 of RAPD markers linked to *Sw-5* in tomato by bulked segregant analysis. *Theoretical and Applied Genetics*. 1996;92:1045-1051. DOI: 10.1007/BF00224047
- Devran Z., Göknuş A., Mesci L. Development of molecular markers for the *Mi-1* gene in tomato using the KASP genotyping assay. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2016;57:156-160. DOI: 10.1007/s13580-016-0028-6
- Dianese E.C. de Fonseca M.E.N., Goldbach R., Kormelink R., Inoue-Nagata A.K., Resende R.O., Boiteux L.S. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the *Sw-5* (*Tospovirus* resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions *Molecular Breeding*. 2010;25:133-142. DOI: 10.1007/s11032-009-9313-8
- El Mehrach K., Gharsall ah Chouchane S., Mejia L., Williamson V.M., Vidavski F., Hatimi A., Maxwell D.P. PCR-based methods for tagging the *Mi-1* locus for resistance to root-knot nematode in begomovirus-resistant tomato germplasm. *Acta Horticulturae*. 2005;695:263-270. DOI: 10.17660/ActaHortic.2005.695.29
- El-Sappah A.H., Islam M.M., Rather S.A., Li J., Yan K., Xianming Z., Abbas M. Identification of novel root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) resistant tomato genotypes. *Journal of Animal & Plant Sciences*. 2022;32(1):99-113. DOI: 10.36899/JAPS.2022.1.0407
- Garland S., Sharman M., Persley D., McGrath D. The development of an improved PCR-based marker system for *Sw-5*, an important TSWV resistance gene of tomato. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2005;56(3):285-289. DOI: 10.1071/AR04140
- Han J.H., Choi H.S., Lee J.D., Kim J.D., Lee W.P., Choi H.S., Yoon J.B. Screening of tomato spotted wilt virus resistance in tomato accessions. *Horticultural Science and Technology*. 2012;30(2):171-177. DOI: 10.7235/hort.2012.11126
- Kabaş A.M.B., Fidan H., Demirelli M.B. Identification of new sources of resistance to resistance-breaking isolates of tomato spotted wilt virus. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2021; 28(5):3094-3099. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.02.053
- Kaur S., Jindal S.K., Dhaliwal M.S. Resistance potential of indeterminate tomato lines against root knot nematode (*Meloidogyne incognita*). *Agricultural Research Journal*. 2019;56(2):220-225. DOI: 10.5958/2395-146X.2019.00034.6
- Lee J.M., Oh C. S., Yeom I. Molecular markers for selecting diverse disease resistances in tomato breeding programs. *Plant Breeding and Biotechnology*. 2015;3:308-322. DOI: 10.9787/PBB.2015.3.4.308
- Mahfouze H.A., Mahfouze S.A., Ottai M.E.S. Molecular characterization of markers linked to tomato spotted wilt virus and tomato mosaic virus resistance loci in tomato. *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2022;10(3):135-144. DOI: 10.7324/JABB.2022.100318
- Martynov V.V., Kozar E.G., Engalycheva I.A. Features of the primary structure of the *Ph-3* gene revealed by development of a new gene-based marker of late blight resistance in tomato. *Agricultural Biology*. 2022;57(5):954-964. [in Russian] (Мартынов В.В., Козарь Е.Г., Енгальчева И.А. Особенности первичной структуры гена *Ph-3*, выявленные при создании нового маркера устойчивости томата к фитофторозу. *Сельскохозяйственная биология*. 2022;57(5):954-964). DOI: 10.15389/agrobiology.2022.5.954rus
- Nascimento I.R.D., Maluf W.R., Figueira A.R., Menezes C.B., Resende J.T.V.D., Faria M.V., Nogueira D.W. Marker assisted identification of tospovirus resistant tomato genotypes in segregating progenies. *Scientia Agricola*. 2009;66:298-303. DOI: 10.1590/S0103-90162009000300003
- Nowicki M., Foolad M.R., Nowakowska M., Kozik E.U. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: an overview of pathology and resistance breeding. *Plant disease*. 2012;96(1):4-17. DOI: 10.1094/PDIS-05-11-0458
- Panthee D.R., Gardner R.G., Ibrahim R., Anderson C. Molecular markers associated with *Ph-3* gene conferring late blight resistance in tomato. *American Journal of Plant Sciences*. 2015;6(13):2144-2150. DOI: 10.4236/ajps.2015.613216
- Panthee D.R., Ibrahim R. New molecular markers associated with the *Sw-5* gene conferring resistance to *Tomato spotted wilt virus* in tomato. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 2013;88(2):129-134. DOI: 10.1080/14620316.2013.11512946
- Park Y., Hwang J., Kim K., Kang J., Kim B., Xu S., Ahn Y. Development of the gene-based SCARs for the *Ph-3* locus, which confers late blight resistance in tomato. *Scientia Horticulturae*. 2013;164:9-16. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.08.013
- Petrov A.F., Koval Yu.I., Listkov V.Yu. The effect of various forms of nitrogen fertilizers on tomato yield. *Innovations and Food Safety*. 2019;(2):145-150. [in Russian] (Петров А.Ф., Коваль Ю.И., Листков В.Ю. Влияние различных форм азотных удобрений на урожайность томата. *Инновации и продовольственная безопасность*. 2019;(2):145-150). DOI: 10.31677/2311-0651-2019-24-2-145-151
- Pidigam S., Thuraga V., Munnam S.B., Amarapalli G., Kuraba G., Pandravada S.R., Sudini H.K. Genetic diversity, population structure and validation of SSR markers linked to *Sw-5* and *I-2* genes in tomato germplasm. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2021;27:1695-1710. DOI: 10.1007/s12298-021-01037-8
- Reddy Y.S., Sellaperumal C., Prasanna H.C., Yadav A., Kashyap S.P., Singh S., Singh B. Screening of tomato genotypes against root-knot nematode and validation of *Mi 1* gene linked markers. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India, Section B: Biological Sciences*. 2018;88:65-72. DOI: 10.1007/s40011-016-0731-1
- Ren Z., You Z., Munir S., Zhang Y., Li H., Zhang J., Ye Z. Development of a highly specific co-dominant marker for genotyping the *Ph-3* (tomato late blight resistance) locus by comparing cultivated and wild ancestor species. *Molecular Breeding*. 2019;39:45. DOI: 10.1007/s11032-019-0953-z
- Seah S., Williamson V.M., Garcia B.E., Mejia L., Salus M.S., Martin C.T., Maxwell D.P. Evaluation of a co-dominant SCAR marker for detection of the *Mi-1* locus for resistance to root-knot

- nematode in tomato germplasm. *Tomato Genetic Cooperative Report*. 2007;57:37-40.
- Shihab K.M., Abood I.D. Genetic segregation of tomato trihybrid, double cross and detection of *Mil-2*, *Mi-3* resistance genes against root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.). *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences*. 2019;15(1):153-162.
- Shneyder Yu.A., Karimova E.V., Prikhodko Yu.N., Lozovaya E.N., Zhivaeva T.S. Tomato viruses, especially dangerous for vegetable growing of Russia. *Potatoes and vegetables*. 2021;(6):3-8. [in Russian] (Шнейдер Ю.А., Каримова Е.В., Приходько Ю.Н., Лозовая Е.Н., Живаева Т.С. Вирусы томата, особо опасные для овощеводства России. *Картофель и овощи*. 2021;(6):3-8). DOI: 10.25630/PAV.2021.93.45.001
- Soler S., Cebolla-Cornejo J., Nuez F. Control of diseases induced by tospoviruses in tomato: an update of the genetic approach. *Phytopathologia Mediterranea*, 2003;42(3):207-219. DOI: 10.14601/Phytopathol Mediterr-1716
- Stevens M.R., Lamb E.M., Rhoads D.D. Mapping the *Sw-5* locus for tomato spotted wilt virus resistance in tomatoes using RAPD and RFLP analyses. *Theoretical and Applied Genetics*. 1995;90:451-456. DOI: 10.1007/BF00221989
- Tanksley S.D., Medina-Filho H., Rick C.M. Use of naturally-occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in an interspecific backcross of tomato. *Heredity*. 1982;49(1):11-25. DOI: 10.1038/hdy.1982.61
- Truong H.T.H., Tran H.N., Choi H.S., Park P.H., Lee H.E. Development of a co-dominant SCAR marker linked to the *Ph-3* gene for *Phytophthora infestans* resistance in tomato (*Solanum lycopersicum*). *European Journal of Plant Pathology*. 2013;136(2):237-245. DOI: 10.1007/s10658-012-0157-4
- Vabishchevich V.V. Tomato viruses: phytosanitary risk of introduction and spread (Virusy tomatov: fitosanitarnyy risk zanosy i rasprostraneniya). *Nashe Sel'skoye Khozyaystvo = Our Agriculture*. 2021;7:64-76. [in Russian] (Вабищевич В.В. Вирусы томатов: фитосанитарный риск заноса и распространения. *Наше сельское хозяйство*. 2021;7(255):64-76).
- Wang Y.-Y., Chen C.-H., Hoffmann A., Hsu Y.-C., Lu S.-F., Wang J.-F., Hanson P. Evaluation of the *Ph-3* gene-specific marker developed for marker-assisted selection of late blight-resistant tomato. *Plant Breeding*. 2016;135(5):636-642. DOI: 10.1111/pbr.12395
- Williamson V.M., Ho J.Y., Wu F.F., Miller N., Kaloshian I.A. PCR-based marker tightly linked to the nematode resistance gene, *Mi*, in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 1994;87:757-763. DOI: 10.1007/BF00221126
- Zhang C., Liu L., Zheng Z., Sun Y., Zhou L., Yang Y., Cheng F., Zhang Z., Wang X., Huang S., Xie B., Du Y., Bai Y., Li J. Fine mapping of the *Ph-3* gene conferring resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) in tomato. *Theoretical and Applied Genetics*. 2013;126:2643-2653. DOI: 10.1007/s00122-013-2162-1

### Информация об авторах

**Иван Николаевич Шамшин**, кандидат биологических наук, заведующий, лаборатория молекулярно-генетического анализа плодовых растений, Мичуринский государственный аграрный университет, 393760 Россия, Тамбовская область, Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101, ivan\_shamshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4464-1876>

**Алексей Сергеевич Ильичев**, младший научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетического анализа плодовых растений, Мичуринский государственный аграрный университет, 393760 Россия, Тамбовская область, Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101, ilichev.aleksey@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9203-9217>

**Мария Григорьевна Фомичева**, кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных культур, Федеральный научный центр овощеводства, 143080 Россия, Московская область, Одинцовский городской округ, поселок ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14, maria.fomicheva.1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>

**Екатерина Владимировна Грошева**, научный сотрудник, лаборатория молекулярно-генетического анализа плодовых растений, Мичуринский государственный аграрный университет, 393760 Россия, Тамбовская область, Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101, ekaterina2687@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6992-2407>

### Information about the authors

**Ivan N. Shamshin**, Cand. Sci. (Biology), Head, Laboratory of Molecular Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, 101, Internatsional'naya Street, Michurinsk, Tambov Region, 393760 Russia, ivan\_shamshin@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4464-1876>

**Alexey S. Pyichev**, Junior Research Associate, Laboratory of Molecular Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, 101, Internatsional'naya Street, Michurinsk, Tambov Region, 393760 Russia, ilichev.aleksey@rambler.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9203-9217>

**Maria G. Fomicheva**, Cand. Sci. (Biology), Research Associate, Laboratory of Reproductive Biotechnology in Agricultural Crop Breeding, Federal Scientific Vegetable Center, 14, Selektionnaya Street, VNISSOK settlement, Odintsovo urban district, Moscow Region, 143080 Russia, maria.fomicheva.1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>

**Ekaterina V. Grosheva**, Research Associate, Laboratory of Molecular Genetic Analysis of Fruit Plants, Michurinsk State Agrarian University, 101, Internatsional'naya Street, Michurinsk, Tambov Region, 393760 Russia, ekaterina2687@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-6992-2407>

**Вклад авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Contribution of the authors:** the authors contributed equally to this article.

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

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

Статья поступила в редакцию 12.03.2024; одобрена после рецензирования 28.07.2024; принята к публикации 08.08.2024.

The article was submitted on 12.03.2024; approved after reviewing on 28.07.2024; accepted for publication on 08.08.2024.