УДК 632.4.01:577.21 https://doi.org/10.25630/PAV.2024.79.36.007

Применение SCAR-маркирования локуса cf-9 для генотипирования новых селекционных образцов томата

SCAR-marking application for genotyping of the Cf-9 locus in new tomato breeding accessions

Пырсиков А.С., Милюкова Н.А.

Аннотация

Томат (*Solanum lycopersicum*) – одна из важнейших овощных культур. Его поражение различными болезнями приводит к снижению урожайности, ухудшению товарного вида продукции, уменьшению количество полезных веществ и лежкости товара. Все это приводит к серьезным финансовым потерям. Одно из самых опасных заболеваний томата – кладоспориоз, возбудителем которого является гриб *Cladosporium fulvum* Cooke. Основной метод борьбы с заболеваниями – выведение и возделывание устойчивых сортов и гибридов томата. Традиционная селекция – длительный процесс, а молекулярные маркеры, применяемые на различных этапах селекционного процесса, способствуют его ускорению и эффективности. Устойчивость томата к кладоспориозу наследуется как полностью доминантный признак. Генетический механизм устойчивости томата к кладоспориозу сложен и контролируется 24 доминантными генами, среди которых один из основных – ген Cf-9. Локус Cf-9 был интегрирован в культурный томат от его дикорастущего родственника *Solanum pimpinellifolium.* Методы молекулярного маркирования, направленные на идентификацию аллелей гена Cf-9, находят все более широкое применение в селекционных программах. Предложенная в настоящем исследовании система SCAR-маркирования локуса данного гена позволяет идентифицировать устойчивые и восприимчивые к кладоспориозу генотипы. Для подтверждения информативности метода были проведены полевые испытания на инфекционном фоне и было обнаружено, что результаты балльной оценки поражения полностью совпадают с результатами генотипирования. Эти результаты указывают на то, что разработанная система SCAR-маркирования аллелей гена Cf-9 может быть рекомендована к использованию в MAS-селекции сортов и гибридов томата, устойчивых к *C. fulvum.*

Ключевые слова: локус Cf-9, томат, *Cladosporium fulvum*, MAS, SCAR-маркеры.

Для цитирования: Пырсиков А.С., Милюкова Н.А. Применение SCAR-маркирования локуса Cf-9 для генотипирования новых селекционных образцов томата // Картофель и овощи. 2024. №2. С. 52-56. https://doi.org/10.25630/PAV.2024.79.36.007

Pyrsikov A.S., Milyukova N.A.

Abstract

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is one of the most important vegetable crops. The injury by various diseases leads to a decrease in yield, deterioration of products, a decrease in the amount of useful substances and the storability that are the main reasons of the serious financial losses. One of the most dangerous diseases of tomato is leaf mould, the causative agent of which is the fungus *Cladosporium fulvum.* The main method of disease control is the breeding and growing of resistant tomato cultivars and hybrids. Traditional breeding is a long process andmolecular markers are effective at various stages of the breeding process. Tomato resistance to leaf mould is inherited as a completely dominant trait. The genetic mechanism of leaf mould resistance is controlled by 24 genes, among which the Cf-9 gene is one of the main ones. The Cf-9 locus has been integrated into cultivated tomato from its wilde relative *Solanum pimpinellifolium.* Molecular labeling methods aimed at identifying alleles of the Cf-9 gene are increasingly being used in breeding programs. The system of SCAR-marking used in current investigation make possible to detect resistant and susceptible to leaf mold genotypes. To confirm the efficiency of the method, tests in place were carried out against an infectious background. It was found that the field score is fully congruent with the results of genotyping. These results shows that the used system of SCAR marking of Cf-9 gene alleles can be successfully used in MAS and breeding of tomato new varieties and hybrids resistant to *C. fulvum.*

Key words: Cf-9 locus, *Cladosporium fulvum*, MAS, SCAR-marking.

For citing: Pyrsikov A.S., Milyukova N.A. SCAR-marking application for genotyping of the Cf-9 locus in new tomato breeding accessions. Potato and vegetables. 2024. No2. Pp. 52-56. https://doi.org/10.25630/PAV.2024.79.36.007 (In Russ.).

Патогенные микрооганизмы продолжают оставаться одной из основных причин снижения урожайности культурного томата (*Solanum lycopersicum*), несмотря на то, что существующие селекционные программы направлены на создание устойчивых сортов и гибридов [1]. Типичный пример – гриб *Cladosporium fulvum*, вызывающий бурую пятнистость, или кладоспориоз.

Патоген имеет высокую внутрипопуляционную изменчивость, быстро эволюционирует благодаря интенсификации возделывания культуры, что определяет наличие множества рас [2]. Наибольший вред заболевание наносит томату в защищенном грунте во второй половине лета или в южных регионах на неустойчивых сортах и гибридах в весенний период. На сортах и гибридах томата, которые неустойчивы к кладоспориозу, сначала болезнь проявляется на нижних листьях, а далее захватывает все растение полностью [3]. Распространение

Таблица 1. SCAR-маркеры, использованные в исследовании

Название маркера	Последовательность (5'->3')	Температура отжига, °С	Размер продукта (устойчивость)	Размер продукта (восприимчивость)	Тип маркера
CS5/ DS1/ CS1 [12]	TTTCCAACTTACAATCCCTTC GAGAGCTCAACCTTTACGAA GCCGTTCAAGTTGGGTGTT	60	378 -(Cf-9); 507 - (9DC)	отсутствие фрагмента	SCAR

спор гриба происходит за счет потоков воздуха, поливной воды и человеческого фактора [4].

Возделывание сортов и гибридов, несущих аллели генов устойчивости к кладоспориозу, становится на сегодняшний день единственным способом реализации потенциальной урожайности и получения качественной продукции как в защищенном, так и в открытом грунте. В идентификации аллелей генов устойчивости к кладоспориозу неоценимое значение имеют молекулярные маркеры.

Идентифицировано несколько доминантных генов устойчивости (R-генов) к *Cladosporium fulvum* – Cf-гены, которые обозначаются от Cf1 до Cf24. Эти гены интрогрессированы в коммерческие сорта от дикорастущих видов: *S. pimpinellifolium, S. habrochaites* и других. Ген Cf2 от *S. pimpinellifolium* обеспечивает иммунитет к некоторым расам возбудителя. Гены Cf4, Cf6 и Cf7 определяющие устойчивость ко многим расам *C. fulvum*, расположены на хромосоме 1 [5]. Ген Cf3 локализован на 11-й хромосоме. Cf 5 и Cf 21 расположены на хромосоме 4, Cf 6 и Cf 11 на хромосоме 12, Cf7 и Cf 8 на хромосоме 9, Cf9 на хромосоме 1, Cf10 на хромосоме 7, Cf14 на хромосоме 3, Cf19 и Cf20 на хромосоме 2, Cf22 на хромосоме 1 и Cf24 на хромосоме 5 [6]. Некоторые из них, как, например, Cf1 и Cf3, теряют свое практическое значение в современных коммерческих сортах и гибридах томата, так как некоторые расы патогена преодолевают определяемую ими устойчивость. Для MAS-селекции наиболее часто используются линии с генами Cf2, Cf4, Cf6, Cf9 [7]. Наличие молекулярно-генетических маркеров этих и других генов устойчивости, позволяющих различать восприимчивые и устойчивые генотипы, способствует реализации селекционных программ без скрининга генотипов на устойчивость к заболеванию на инфекционном фоне. Наиболее перспективным на сегодняшний день остается ген Cf9, который длительное время обеспечивает устойчивость томата к популяции возбудителя кладоспориоза [8].

Ген R томата Cf-9 опосредует распознавание штаммов *Cladosporium fulvum*, несущих ген Avr9. У устойчивых растений при таком взаимодействии активируется реакция гиперчувствительности. Ген Cf-9 является членом семейства генов под названием Hcr9s (гомологи гена устойчивости *Cladosporium fulvum* Cf-9), присутствующего на коротком плече хромосомы 1 томата. Ген Cf-9 является третьим Hcr9 (Hcr9–9C) кластера из пяти гомологов, которые кодируют рецептороподобные белки с внеклеточными LRR и, как предполагается, закрепляются в плазматической мембране [9, 10]. Локус Cf-9 был интрогрессирован в культурный томат от дикорастущего вида *Solanum pimpinellifolium* **(рис. 1)** [11].

Рис. 1. Кладоспориоз томата на листьях [11]

В дополнение к Cf-9, было показано наличие в популяции *S. pimpinellifolium* второго гена, обозначенного как 9DC, который также обеспечивает распознавание Avr9. Cf-9, вероятнее всего, эволюционировал путем внутригенной рекомбинации между 9DC и другим Hcr 9 [12, 13].

Цель настоящего исследования – идентификация доминантных аллелей генов Cf-9 и 9DC с помощью монолокусного SCAR-маркера. Это, в свою очередь, позволит выявить устойчивые и восприимчивые к кладоспориозу генотипы среди изучаемых образцов и соотнести результаты молекулярно-генетического маркирования с балльной оценкой генотипов на инфекционном фоне.

Условия, материалы и методы исследований

Материалом для идентификации аллелей генов Cf-9 и 9DC послужила коллекция семян из 89 селекционных образцов (40 линий), предоставленная канд. с.-х. наук, ведущим научным сотрудником ВНИИО – филиала ФГБНУ ФНЦО, ведущим селекционером компании «Поиск» Татьяной Аркадьевной Терешонковой. В составе коллекции представлены опытные гибриды томата различных товарных групп (крупноплодные, кистевые, коктейль, черри). Молекулярно-генетический анализ представленной коллекции проведен на базе лаборатории маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ). Полевые испытания проведены на базе селекцентра ВНИИО «Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства»» (ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО). Исследования проведены с 2020 по 2022 годы.

Коллекция, включающая 89 образцов, была проанализирована с помощью праймеров, синтезированных ООО «Синтол» (г. Москва) **(табл. 1)**.

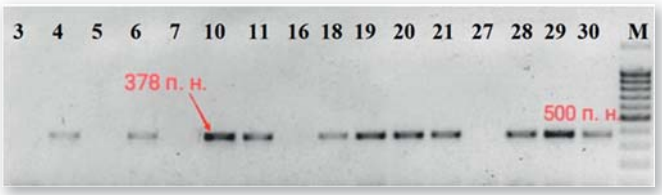

Рис. 2. Электрофореграмма по результатам анализа некоторых линий, праймеры CS5/DS1/CS5 M – маркер 100bp+ (ООО «Синтол», г. Москва)

Таблица 2. Результаты молекулярно-генетического анализа и полевых испытаний исследуемых образцов томата, 2020–2022 годы

№			Cf-9	Кладоспориоз	Сравнение	Окраска*	Тип плода*
линии п/п	марки	посевной	378 - уст (Cf-9); 507 - уст (9DC); отсут. фрагмента – воспр	фон - Селекцентр ВНИИО, 2020 год	совпадение оценки ПЦР + фон		
1	1	149-2	378	0/2,5	Р	оранж.	чер.
2	86	755-3	378	0	Да	желт.	чер.
3	3	150-1	0	нет данных	–	оранж.	чер.
4	46	736-1	378	0	Да	красн.	круп.
5	5	151-1	0	0	Да	красн.	круп.
6	7	152-1	378	0	Да	красн.	круп.
7	9	153-1	0	1	Да	красн.	круп.
.8	11	154-1	0	1	Да	красн.	круп.
9	13	155-1	0	1	Да	красн.	чер.
10	15	156-1	378	0	Да	оранж.	чер.
11	17	157-1	378	нет данных	–	оранж.	чер.
12	44	731-1	378	0/1	Р	красн.	чер.
13	19	158-1	0	1	Да	красн.	круп.
14	21	159-1	378	0/1	Р	красн.	круп.
15	23	160-1	378	1	Нет	красн.	круп.
16	81	751-1	0	1	Да	оранж.	чер.
17	24b	161-1	0	1	Да	желт.	кокт.
18	26	162-4	378	0	Да	желт.	кокт.
19	30	333-1	378	0	Да	желт.	чер.
20	28	163-1	378	0	Да	желт.	кокт.
21	32	334-1	378	0	Да	красн.	круп.
22	36	336-1	378	0	Да	красн.	круп.
23	69	352-2	378	0	Да	красн.	чер.
24	38	337-1	0	1	Да	красн.	круп.
25	40	338-1	378	1	Нет	красн.	круп.
26	77	356-1	0	нет данных	–	красн.	чер.
27	42	339-1	0	1	Да	красн.	круп.
28	48	340-2	378	0	Да	оранж.	кокт.
29	49	341-1	378	0	Р	оранж.	кокт.
30	51	342-2	378	0	Да	красн.	кокт.
31	52	343-1	378	0/2	Р	малин.	кокт.
32	54	344-1	378	0	Р	красн.	круп.
33	55	345-1	378	0	Р	красн.	круп.
34	57	346-1	0	1	Да	красн.	круп.
35	59	347-1	0	1	Да	красн.	круп.
36	61	348-1	0	1	Да	красн.	круп.
37	63	349-1	0	0/1	Р	красн.	чер.
38	65	350-1	378	0	Р	красн.	чер.
39	71	353-1	378	0	Да	красн.	чер.
40	73	354-1	378	0	Р	красн.	чер.
41	75	355-1	0	0	Р	красн.	чер.
42	79	357-1	378	0	Да	красн.	круп.
43	83	752-1	378	0	Да	оранж.	чер.
Всего, совпадение результатов оценки			–	–	27	–	
Всего, несовпадение результатов оценки			–	–	2	–	
Всего, расщепление по 1 или 2 оценкам			–	–	11	–	
Всего проанализировано			–	–	40	–	

**Окраска: красн.- красный; оранж.-оранжевый; желт.- желтый; малин.-малиновый. Тип плода: круп.- крупноплодный; чер.- черри; кокт.- коктейль.*

Выделение ДНК проводили из молодых листьев по методике, описанной Dilworth, E. [14] с модификациями Henry R. [15]. Реакционная смесь для ПЦР объемом 25 мкл содержала 50–100 нг ДНК, 2,5 мМ dNTP, 3мМ MgSO4, 10пМ каждого праймера, 2 ед. Taq-полимеразы (Синтол, г. Москва) и 2х стандартный ПЦР буфер. Реакцию проводили в амплификаторе Termal Cycler Bio-Rad T 100 по программе 95 °С – 5 мин, 35 циклов 95 °С – 20 с, 60 °С – 30 с, 72 °С – 30 с, финальная элонгация в течение 5 мин при 72 °С. Визуализацию результатов ПЦР проводили путем электрофореза в 1,7% -м агарозном геле с 1× ТАЕ буфером, результаты анализировали с помощью системы Gel Doc 2000 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Анализ последовательностей на основании имеющихся экспериментальных данных и последовательности гена Cf-9 посредством биоинформатических ресурсов BLAST NCBI и Unipro UGENE показал, что праймеры, представленные в **таблице 1**, позволят выявить полиморфизм между устойчивыми и восприимчивыми генотипами в популяции культурного томата *Solanum lycopersicum.*

Праймеры CS5/DS1/CS1 позволяют амплифицировать продукты 378 пн и 507 пн у устойчивых к кладоспориозу генотипов, что указывает на наличие аллелей генов Cf-9 и 9DS, соответственно **(рис. 2)**. У изучаемых сортообразцов происходила амплификация фрагментов только одного размера – 378 пн. У восприимчивых генотипов амплификации не происходит.

Для подтверждения результатов молекулярно-генетического маркирования была проведена оценка исходного материала на инфекционном фоне. Балльную оценку исходного материала на устойчивость/восприимчивость к исследуемому заболеванию проводили в теплице (защищенном грунте) согласно «Методическим указаниям по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта» (Москва, ВАСХНИЛ, ВНИИССОК, 1986 год). Развитие болезни (балл) определяли по общепринятым в фитопатологии методикам. Оценка проводилась на естественном инфекционном фоне на устойчивость к кладоспориозу. Для оценки развития кладоспориоза пользовались 5 – балльной шкалой: 0 – отсутствие признаков поражения; 4 – полная гибель растения [16].

Результаты исследований

Для того чтобы подтвердить эффективность использования данного типа маркирования в MAS-селекции сортов и гибридов томата, была проведена полевая оценка изучаемых генотипов на инфекционном фоне. Результаты молекулярно-генетического анализа и полевых испытаний представлены в **таблице 2**.

Таким образом, оценка генотипов томата как на устойчивость к кладоспориозу, так и по другим признакам, часто требует специальных приемов. Технологии молекулярного маркирования, основанные на ПЦР-анализе, позволяют значительно сократить длительность селекционного процесса, поскольку в данном случае исключается необходимость проведения полевых испытаний и лабораторных оценок. Молекулярно-генетический анализ может быть выполнен как на ранних, так и на более поздних этапах селекционного процесса. Эффективность маркеров различных типов увеличивается с каждым годом, так как наблюдается тесная корреляция результатов маркирования с анализируемым хозяйственно ценным признаком. В частности, предложенный в данном исследовании SCAR-маркер гена Cf-9 показал высокую информативность и позволил провести анализ селекционных линий культурного томата, прежде всего, идентифицировать восприимчивые к кладоспориозу генотипы. Из проанализированных сорока линий томата совпадение данных молекулярно-генетического анализа и полевых испытаний выявлено в 68% случаев – у двадцати семи линий из сорока, что указывает на высокую эффективность применяемого SCAR-маркера.

В селекционных программах томата на устойчивость к кладоспориозу применяются различные системы маркирования [9, 12]. В большинстве случаев молекулярно-генетический анализ позволяет выявить гомозиготные устойчивые и гетерозиготные генотипы культурного томата. Предложенная в данном исследовании система SCAR-маркирования, кроме того, позволяет идентифицировать аллели генов Cf-9 и 9DC, что делает ее еще более перспективной при использовании в селекции. У образцов изучаемой коллекции идентифицирован только аллель Cf-9. Локус Cf-9, перешедший в генотип культурного томата от дикорастущего *S. pimpinellifolium*, обеспечивает распознавание AVR9. В некоторых исследованиях идентифицируется также второй ген, обозначенный как 9DC, который также обеспечивает распознавание AVR9 [13]. По сравнению с Cf-9, 9DC полиморфнее, встречается чаще и шире распространен среди популяции *S. pimpinellifolium.* Анализируя последовательности генов Cf-9 и 9DC можно предположить, что Cf-9 эволюционировал от 9DC за счет внутригенной рекомбинации между 9DC и другим Hcr9. Тот факт, что белки 9DC и Cf-9 различаются по 61 аминокислотному остатку, и оба опосредуют распознавание AVR9, показывает, что в природные белки Hcr9 с той же специфичностью распознавания могут значительно различаться.

Выводы

Применяемая в данном исследовании система маркирования оказалась информативна с точки зрения идентификации гомологов гена Cf-9 и позволила выявить восприимчивые генотипы, которые необходимо исключить из селекционной работы. Из 89 проанализированных образцов томата различных товарных групп 60 оказались устойчивыми к кладоспориозу, у них подтверждено наличие аллеля Cf-9. Образцы с аллелем 9DC в результате проведенного анализа не выявлены.

Образцы, идентифицированные в данном исследовании как восприимчивые к кладоспориозу, могут быть исключены из селекционного процесса, что также позволит сократить объем анализируемого материала на последующих этапах выведения гибридов и сортов томата. Поскольку традиционная селекция является длительным процессом, то применение молекулярного маркирования, в том числе и SCAR-маркирования устойчивости к кладоспориозу на различных этапах селекционного процесса, способствует его ускорению и эффективности.

Библиографический список

1.Foolad, M. R., & Panthee, D. R. Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding// Critical Reviews in Plant Sciences. 2012. №31(2). Pp. 93–123. Doi: 10.1080/07352689.2011.616057.

2.Идентификация аллелей гена Cf-9 устойчивости к кладоспориозу у гибридов томата F_1 селекции Агрофирмы «Поиск» / А.С. Ерошевская, А.А. Егорова, Н.А. Милюкова, А.С. Пырсиков // Картофель и овощи. 2021. №3. С. 35–37. https://doi.org/10.25630/PAV.2021.55.18.004

3.Пересыпкин, В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. 4-е изд., доп. и перераб. Москва: Агропромиздат, 1989. 480 с.

4.Walter, J.M. Hereditary resistance to disease in tomato. Annu. Rev. Phytopathol. 1967. №5. Pp. 131–160.

5.Transcriptome Analysis of the Cf-13-MediatedHypersensitive Response of Tomato to Cladosporium fulvum Infection. X. Jiang, Y. Li, R. Li [et al.]. Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23. P. 4844. Doi: 10.3390/ijms23094844.

6.Mapping and candidate gene screening of tomato Cladosporium fulvum-resistant gene Cf-19, based on high-throughput sequencing technology. T. Zhao, J. Jiang, G. Liu, S. He [et al.]. BMC Plant Biol. 2016.16:51. Doi:10.1186/s12870-016-0737-0.

7.Two complex resistance loci revealed in tomato by classical and RFLP mapping of the Cf-2, Cf-4, Cf-5 and Cf-9 genes for resistance to Cladosporium fulvum/ Dickinson M.J., Balint-Kurti P.J., Dixon M.S., Jones J.D. Plant-Microbe Interact. 1993. Vol.6. Pp. 348–357.

8.Novel Mutations Detected in Avirulence Genes Overcoming Tomato Cf Resistance Genes in Isolates of a Japanese Population of Cladosporium fulvum. Y. Iida,van 't Hof P, H. Beenen, C. Mesarich [et al.]. PLoS ONE. 2015. Vol. 10(4). Doi:10.1371/journal.pone.0123271.

9.Kim B. Hwang I.S., Lee H-J. Combination of newly developed SNP and InDel markers for genotyping the Cf-9 locus conferring disease resistance to leaf mold disease in the tomato. Mol. Breeding, 2017. Vol. 37. Pp. 59. Doi: 10.1007/s11032-017-0663-3.

10.The Cf-4 and Cf-9 Resistance Genes Against Cladosporium fulvum are Conserved in Wild Tomato Species. M.Kruijt, D. J. Kip, M. H. A. J. Joosten, Bas F. Brandwagt [et al.]. The American Phytopathological Society. 2005. Vol. 18, N9. Pp.1011–1021. Doi: 10.1094/MPMI-18-1011.

11.Occurrence of leaf mold pathogen Fulviafulva strains infecting tomato Cf-9 cultivars in Korea / J.H. Lee, M.S. Park, K.S Jang [et al] // Koream J. of Horticultural Science and Technology. 2013. Vol. 31. P. 740–747. Doi: 10.7235/hort.2013.13017.

12.Use of Cf-9 Gene-based Markers in Marker-assisted Selection to Screen Tomato Cultivars with Resistance to Cladosporium fulvum. H. T. H Truong, H. Choi, M. C. Cho, H. E. Lee, & J. H. Kim. Hort. Environ. Biotechnol. 52(2): 204-210, 2011. Doi: 10.1007/s13580-011-0164-y.

13.Intragenic recombination generated two distinct Cf genes that mediate AVR9 recognition in the natural population of Lycopersicon pimpinellifolium. R. A. L. Van der Hoorn, M. Kruijt, R. Roth, B. F. Brandwagt, M. H. A. J. Joosten et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 2001. Vol. 98. Pp. 10493–10498. Doi: 10.1073/pnas.181241798

14.Dilworth, E. and Frey, J. A rapid method for high throughput DNA extractionfrom plant material for PCR amplification. Plant Molecular Biology Reporter. 2000. №18. Pp. 61–64. Doi: 10.1007/BF02825295.

15.Henry, R. J. (2001). Plant DNA extraction Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants. Oxford: CABI.239-249. Doi: 10.1079/9780851995151.0000.

16.Велижанов Н.М., Кондратьева И.Ю., Енгалычев М.Р. Оценка образцов томата с целью выделения ценного исходного материала для селекции // Известия ФНЦО. 2019. №2. С. 39–44. Doi: 10.18619/2658-4832-2019-2-39-44.

References

1.Foolad, M. R., & Panthee, D. R. Marker-Assisted Selection in Tomato Breeding// Critical Reviews in Plant Sciences. 2012. No31(2). Pp. 93–123. Doi: 10.1080/07352689.2011.616057.

2.Identification of Cf-9 gene alleles of resistance to leaf mold in F_1 tomato hybrids bred by Poisk Agrofirm. A.S. Eroshevskaya, A.A. Egorova, N.A. Milyukova, A.S. Pyrsikov. Potato and vegatables. 2021. No3. Pp. 35–37. https://doi.org/10.25630/PAV.2021.55.18.004 (In Russ.).

3.Peresypkin, V.F. Agricultural phytopathology. Moscow. Agropromizdat, 1989. 480 p. (In Russ.).

4.Walter, J.M. Hereditary resistance to disease in tomato. Annu. Rev. Phytopathol. 1967. No5. Pp. 131–160.

5.Transcriptome Analysis of the Cf-13-MediatedHypersensitive Response of Tomato to Cladosporium fulvum Infection. X. Jiang, Y. Li, R. Li [et al.]. Int. J. Mol. Sci. 2022. Vol. 23. P. 4844. Doi: 10.3390/ijms23094844.

6.Mapping and candidate gene screening of tomato Cladosporium fulvum-resistant gene Cf-19, based on high-throughput sequencing technology. T. Zhao, J. Jiang, G. Liu, S. He [et al.]. BMC Plant Biol. 2016.16:51. Doi:10.1186/s12870-016-0737-0.

7.Two complex resistance loci revealed in tomato by classical and RFLP mapping of the Cf-2, Cf-4, Cf-5 and Cf-9 genes for resistance to Cladosporium fulvum/ Dickinson M.J., Balint-Kurti P.J., Dixon M.S., Jones J.D. Plant-Microbe Interact. 1993. Vol.6. Pp. 348–357.

8.Novel Mutations Detected in Avirulence Genes Overcoming Tomato Cf Resistance Genes in Isolates of a Japanese Population of Cladosporium fulvum. Y. Iida,van 't Hof P, H. Beenen, C. Mesarich [et al.]. PLoS ONE. 2015. Vol. 10(4). Doi:10.1371/journal.pone.0123271.

9.Kim B. Hwang I.S., Lee H-J. Combination of newly developed SNP and InDel markers for genotyping the Cf-9 locus conferring disease resistance to leaf mold disease in the tomato. Mol. Breeding, 2017. Vol. 37. Pp. 59. Doi: 10.1007/s11032-017-0663-3.

10.The Cf-4 and Cf-9 Resistance Genes Against Cladosporium fulvum are Conserved in Wild Tomato Species. M.Kruijt, D. J. Kip, M. H. A. J. Joosten, Bas F. Brandwagt [et al.]. The American Phytopathological Society. 2005. Vol. 18, No9. Pp.1011–1021. Doi: 10.1094/MPMI-18-1011.

11.Occurrence of leaf mold pathogen Fulviafulva strains infecting tomato Cf-9 cultivars in Korea / J.H. Lee, M.S. Park, K.S Jang [et al] // Koream J. of Horticultural Science and Technology. 2013. Vol. 31. P. 740–747. Doi: 10.7235/hort.2013.13017.

12.Use of Cf-9 Gene-based Markers in Marker-assisted Selection to Screen Tomato Cultivars with Resistance to Cladosporium fulvum. H. T. H Truong, H. Choi, M. C. Cho, H. E. Lee, & J. H. Kim. Hort. Environ. Biotechnol. 52(2): 204–210, 2011. Doi: 10.1007/s13580-011-0164-y.

13.Intragenic recombination generated two distinct Cf genes that mediate AVR9 recognition in the natural population of Lycopersicon pimpinellifolium. R. A. L. Van der Hoorn, M. Kruijt, R. Roth, B. F. Brandwagt, M. H. A. J. Joosten et al. Proc. Natl. Acad. Sci. 2001. Vol. 98. Pp. 10493–10498. Doi: 10.1073/pnas.181241798

14.Dilworth, E. and Frey, J. A rapid method for high through put DNA extractionfrom plant material for PCR amplification. Plant Molecular Biology Reporter. 2000. No18. Pp. 61–64. Doi: 10.1007/BF02825295.

15.Henry, R. J. (2001). Plant DNA extraction Plant Genotyping: the DNA Fingerprinting of Plants. Oxford: CABI.239-249. Doi: 10.1079/9780851995151.0000.

16.Velizhanov N.M., Kondrateva I.Yu., Engalychev M.R. Evaluation of tomato samples in order to identify valuable source material for breeding. News of FSVC. 2019. No2. Pp. 39–44. Doi: 10.18619/2658-4832-2019-2-39-44 (In Russ.).

Об авторах

Пырсиков Андрей Сергеевич, канд. с.-х. наук, с.н.с. отдела молекулярной биологии, ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов»; н.с. лаборатории маркерной и геномной селекции растений, ФГБНУ ВНИИСБ. Тел.: +7 (906) 723-50-00. E–mail: andrey.pyrsikov@yandex.ru

Милюкова Наталья Александровна, канд. биол. наук, с. н. с. лаборатории маркерной и геномной селекции растений ФГБНУ ВНИИСБ. Тел.: +7 (916) 225-35-05. E–mail: milyukovan@gmail.com

Author details

Pyrsikov A.S., Cand. Sci. (Agr.), senior research fellow, Molecular Biology Department, The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality; research fellow of Laboratory of Marker and Genomic Plant Breeding, FSBSI All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology (ARRIAB).E-mail: andrey.pyrsikov@yandex.ru

Milyukova N.A., Cand. Sci. (Biol.), senior research fellow of Laboratory of Marker and Genomic Plant Breeding, FSBSI All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology (ARRIAB). E–mail: milyukovan@gmail.com