

Оригинальная статья / Original article

https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-5-10
УДК: 635.342:631.524.86

М.Г. Фомичева^{1*}, Г.А. Костенко²,
А.С. Домблидес¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Федеральный научный центр овощеводства" (ФГБНУ ФНЦО) 143072, Россия, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14

² Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства» (ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО) 140153, Россия, Московская область, Раменский район, д. Верейя, стр. 500

*Автор для переписки: maria.fomicheva.1@yandex.ru

Вклад авторов: Фомичева М.Г.: концептуализация, проведение исследования, анализ данных, создание рукописи; Костенко Г.А.: концептуализация, проведение исследования, анализ данных, создание рукописи; Домблидес А.С.: ресурсы, курирование данных, редактирование рукописи.

Конфликт интересов. Домблидес А.С. является членом редакционной коллегии журнала «Овощи России» с 2023 года, но не имеет никакого отношения к решению опубликовать эту статью. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляют.

Для цитирования: Фомичева М.Г., Костенко Г.А., Домблидес А.С. Ускорение селекции устойчивых к фузариозу линий капусты белокочанной (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) за счет использования ДН-линий и маркер-ассоциированной селекции. *Овощи России*. 2024;(6):5-10. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-5-10>

Поступила в редакцию: 25.10.2024

Принята к печати: 25.11.2024

Опубликована: 29.11.2024

Maria G. Fomicheva^{1*}, Galina A. Kostenko²,
Arthur S. Dombldes¹

¹ Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center (FSBSI FSVC) 14, Seleccionnaya str., VNISSOK, Odintsovo district, Moscow region, 143072, Russia

² All-Russian Research Institute of Vegetable Growing – branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Scientific Vegetable Center" 500, Vereya, Ramensky district, Moscow region, 140153, Russia

*Corresponding Author:

maria.fomicheva.1@yandex.ru

Authors Contribution: Fomicheva M.G.: conceptualization, conducting the study, data analysis, writing the manuscript; Kostenko G.A.: conceptualization, conducting the study, data analysis, writing the manuscript; Dombldes A.S.: resources, data curation, manuscript editing.

Conflict of interest. Dombldes A.S. has been a member of the editorial board of the Journal "Vegetable crops of Russia" since 2023, but had nothing to do with the decision to publish this manuscript. The manuscript passed the journal's peer review procedure. The authors declare no other conflicts of interest.

For citation: Fomicheva M.G., Kostenko G.A., Dombldes A.S. Marker-assisted selection and DH-technology utilized to accelerate fusarium-resistant cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) line development. *Vegetable crops of Russia*. 2024;(6):5-10. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2024-6-5-10>

Received: 25.10.2024

Accepted for publication: 25.11.2024

Published: 29.11.2024

Ускорение селекции устойчивых к фузариозу линий капусты белокочанной (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) за счет использования ДН-линий и маркер-ассоциированной селекции

Check for updates



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Применение современных биотехнологических методов в селекции, а именно технологии удвоенных гаплоидов и маркер-опосредованной селекции может существенно сократить время создания гомозиготных селекционных линий и отбор тех из них, которые обладают ценными сельскохозяйственными свойствами. Фузариозное увядание является одним из экономически важных заболеваний капусты белокочанной, поэтому отработка метода отбора удвоенных гаплоидных растений, устойчивых к фузариозу с помощью молекулярно-генетических маркеров может позволить быстро получать чистые линии, устойчивые к фузариозу, при этом анализ возможно проводить на любой стадии развития растения.

Материал и методы. Для тестирования эффективности маркера *FocBNUf/r* к полиморфному участку гена *FocBo1*, позволяющему различать устойчивые и восприимчивые генотипы, использовали проверенные на инфекционном фоне *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* гибриды Герцогиня F₁, Поиск 2018 F₁ (устойчивые образцы, оригинатор – Агрофирма «Поиск») и Слава 1305 (восприимчивый образец, оригинатор – Федеральный научный центр овощеводства). Маркер *FocBNU* был применен для анализа 60 удвоенных гаплоидов 12 различных генотипов.

Результаты. Было продемонстрировано, что маркер *FocBNUf/r* эффективно дифференцирует устойчивые и неустойчивые образцы. Были получены удвоенные гаплоиды из 12 различных селекционных образцов. ПЦР-тестирование удвоенных гаплоидов на устойчивость к фузариозу позволило отобрать в 8 генотипах 6,7-100% растений с наличием гена устойчивости к фузариозу в гомозиготном состоянии. Были отбракованы удвоенные гаплоиды 4 генотипов, которые не несли гена устойчивости.

Заключение. Маркер *FocBNUf/r* позволяет эффективно выявлять устойчивые и восприимчивые образцы, а также различать гомозиготные и гетерозиготные растения. Маркер *FocBNUf/r* был применен для отбора устойчивых удвоенных гаплоидов капусты белокочанной на стадии рассады. Таким образом, удалось не только ускорить получение чистых линий за счет получения удвоенных гаплоидов, но и ускорить отбор ценных образцов, несущих ген устойчивости к фузариозу, позволяя избежать трудоемкий этап отбора устойчивых линий на инфекционном фоне.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

молекулярно-генетические маркеры, ПЦР, фузариозное увядание, *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*, капуста белокочанная, удвоенные гаплоиды

Marker-assisted selection and DH-technology utilized to accelerate fusarium-resistant cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) line development

ABSTRACT

Relevance. The use of modern biotechnological methods in breeding, namely the doubled haploid technology and marker-assisted selection, can significantly reduce the time for creating pure lines with valuable properties. *Fusarium* wilt is one of the economically important diseases of white cabbage. Therefore, the development of a MAS method for selecting doubled haploids resistant to *fusarium* wilt would allow fast selection of resistant pure lines. Moreover, the resistance testing can be done at any plant developmental stage.

Materials and methods. The response of hybrids Gertsoginya F₁, Poisk 2018 F₁ (resistant samples, the originator – the Agrofirma "Poisk") and Slava 1305 (susceptible sample, the originator – Federal Scientific Vegetable Center) towards *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* infection was determined by evaluating their growth on the inoculated soil. To test the efficiency of the *FocBNUf/r* marker to the polymorphic region of the *FocBo1* gene, the markers were tested on resistant and susceptible genotypes. Then the markers were applied to analyze 60 doubled haploids of 12 different genotypes.

Results. It was demonstrated that the *FocBNUf/r* marker effectively differentiated resistant and susceptible samples. Doubled haploids were obtained from 12 different breeding samples for *FocBNUf/r* marker-based selection of *fusarium* wilt resistant plants. PCR testing of doubled haploids for *fusarium* resistance allowed us to select 6.7-100% of plants with the *fusarium* resistance gene in a homozygous state in 8 genotypes. 4 genotypes of doubled haploids that did not carry the resistance gene were eliminated from the breeding program.

Conclusion. The *FocBNUf/r* marker effectively identified resistant and susceptible samples, as well as differentiates homozygous and heterozygous plants. *FocBNUf/r* marker was used to select resistant doubled haploids of white cabbage at the seedling stage. Thus, it was possible not only to accelerate the production of pure lines by obtaining doubled haploids, but also to accelerate the selection of valuable samples carrying the gene of resistance to *fusarium*, which makes it possible to avoid the labor-intensive selection of resistant lines on inoculated soil.

KEYWORDS:

molecular markers, PCR, *Fusarium* wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*, white cabbage, doubled haploids

Введение

Капуста белокочанная *Brassica oleracea* var. *capitata* L. является одной из основных овощных культур благодаря высоким показателям пищевой ценности, а также высокой урожайности [1]. Одной из основных причин, снижающих урожайность капусты белокочанной, являются болезни, в частности, фузариоз, вызываемый грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* [2, 3]. Возбудитель фузариоза вызывает пожелтение листьев и потерю ими тургора. На просвет и на срезе видно потемнение сосудов листьев. При развитии заболевания растения замедляют рост, теряют товарный вид и зачастую погибают, что приводит к значительной потере урожая [3]. Выведение устойчивых сортов и гибридов капусты является самым надежным способом борьбы с фузариозом, однако традиционные методы отбора устойчивых растений капусты при выращивании образцов на инфекционном фоне очень трудоемки, поэтому ускоренное получение гомозиготного селекционного материала с помощью технологии удвоенных гаплоидов и использование молекулярных маркеров для выявления устойчивых образцов облегчило бы задачу селекции новых устойчивых сортов и гибридов.

Для ускорения селекции образцов с заданными признаками все больше начинают применять молекулярно-генетические маркеры. Разрабатываются и испытываются маркеры для выявления признаков стерильности [4, 5], устойчивости к гербицидам [6] и болезням [7, 8, 9, 10], маркеры для определения содержания различных веществ [11] и другие. Маркер-ассоциированная селекция может применяться на любой стадии развития растения и не занимает продолжительного времени. Кроме того, можно протестировать наличие целого ряда различных признаков на одних и тех же образцах за короткий срок.

Изучение наследования устойчивости к фузариозу показало, что существует два типа устойчивости. Первый тип (А) обусловлен одним доминантным геном *FocBo1*, который дает стабильную устойчивость к *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. Второй вид устойчивости (В) наследуется несколькими генами и обеспечивает резистентность только при температурах ниже 24°C [12]. Первый тип устойчивости является наиболее часто используемым в селекционных программах. В последние годы были разработаны различные маркеры, сцепленные с геном устойчивости к фузариозу [13, 14, 15]. Также был разработан маркер МТК-С, комплементарный той части гена *FocBo1*, которая различается между устойчивыми и восприимчивыми аллелями гена (*FocBo1* и *focBo1*, соответственно) [16]. Однако впоследствии было установлено, что данный маркер дает ошибочную оценку наличия или отсутствия устойчивости в 9,6% протестированных линий [17]. Было проанализировано большое число устойчивых и восприимчивых образцов различных морфотипов *B. oleracea* L., и был выявлен высокий уровень полиморфизма гена *FocBo1*: были обнаружены 2 устойчивые и 6 неустойчивых аллелей. Авторы исследования сравнили последовательности всех найденных вариантов гена, обнаружили SNP в интроне 3, который позволял различить устойчивые и неустойчивые аллели, и разработали CAPS маркер к нему (*FocBNUf/r*) [17].

Целью исследования было протестировать эффективность дифференциации устойчивых и неустойчивых образцов отечественной селекции с помощью CAPS

маркера *FocBNUf/r*. Также была поставлена цель апробировать данный маркер для ускоренного отбора устойчивых к фузариозу удвоенных гаплоидов капусты белокочанной.

Материалы и методы исследований

В качестве образцов устойчивых к фузариозу были взяты гибриды капусты белокочанной Герцогиня F₁ и Поиск 2018 F₁ (оригинатор – Агрофирма «Поиск»); а в качестве восприимчивого – Слава 1305 (оригинатор – Федеральный научный центр овощеводства). Оценку данных образцов на устойчивость к фузариозному увяданию (*Fusarium oxysporum* f. sp. *coglutinans*) проводили согласно методическим рекомендациям на искусственном инфекционном фоне, созданном на основе расы Foc 1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* [18].

Семена устойчивых и восприимчивых образцов капусты белокочанной высевали в чашки Петри с увлажненной фильтровальной бумагой и проращивали при естественном освещении в течение 7 дней.

Удвоенные гаплоидные линии (DH-линии) капусты белокочанной получали методом культивирования изолированных микроспор капусты [19, 20]. Бутоны, прошедшие предобработку низкой температурой (7-10°C) стерилизовали гипохлоритом натрия (50% раствором коммерческого препарата «Белизна») с 2 каплями Tween 20 в течение 12-15 минут, затем трижды отмывали дистиллированной водой. Затем из бутонов выделяли микроспоры на магнитной мешалке в промывочной среде NLN-13. Микроспоры профильтровывались с помощью нейлонового фильтра (диаметр пор 40 мкм) и трижды отмывали в промывочной среде NLN-13 с помощью центрифугирования (100-130 г в течение 5 минут). Выделенные микроспоры помещали в 60 мм чашки Петри со средой NLN-13, инкубировали при 32°C в течение 36 часов, а затем переносили в шейкер-инкубатор и культивировали в темноте при комнатной температуре в течение месяца. Регенерирующие эмбриониды переносили на твердую 1/2 МС с 2% сахарозой и пересаживали до формирования полноценных растеньиц с несколькими листьями и корнями. На этом этапе растения переносили из условий *in vitro* в горшки с торфом для адаптации к внешним условиям. Плоидность растений тестировали с помощью метода проточной цитометрии: ядра, выделенные из растения-стандарта (капуста белокочанная, выращенная из семян) и растений-регенерантов с помощью разрезания листьев бритвой с последующей фильтрацией через фильтры 30 мкм (Miltenyi Biotec), окрашивали пропидием иодидом (Sigma) и анализировали на проточном цитометре (CytoFLEX, Beckman Coulter), согласно методике, описанной ранее [21]. Для дальнейшей работы использовали только диплоидные растения.

Для выделения ДНК проростки капусты или фрагменты настоящих листьев удвоенных гаплоидов помещали в 2 мл пробирки с буфером СТАВ [22] и измельчали на гомогенизаторе TissueLyser LT (Qiagen). Далее ДНК выделяли согласно протоколу СТАВ метода [22]. Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала 20 нг ДНК, 2,75 мМ MgCl₂, 0,5 мкМ каждого праймера (Синтол) и 3 мкл 5x MasDDTaqMIX-2025 (Диалат), включающего в себя ПЦР буфер, ДНК полимеразу и dNTPs. Данные по используемым праймерам указаны в таблице 1. ПЦР реакцию проводили в амплификаторе Bio-Rad T100 (Bio-Rad, США) по следующей программе: 3 мин 95°C, 35 циклов [30 с 95°C, 30 с 56°C,

1 мин 72°C], 5 мин 72°C. Продукты амплификации разрежали эндонуклеазой рестрикции EcoRV следующим образом: реакционная смесь объемом 20 мкл содержала 10 мкл ПЦР реакции, 2 мкл SE-buffer W 10x (СибЭнзим), 0,2 мкл 10 мг/мл BSA (СибЭнзим), 0,5 мкл 20000 е.а./мл EcoRV (СибЭнзим), 7,3 мкл воды MilliQ. Реакционную смесь инкубировали при 37°C 2 часа. Далее полученные рестрикционные фрагменты ДНК разделяли путем электрофореза в 1,5% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Агарозные гели анализировали с помощью трансиллюминатора «Квант-С» (Хеликон, Россия) и гель-документирующей системы «Взгляд» (Хеликон, Россия).

Из отобранных устойчивых и неустойчивых образцов капусты белокочанной была выделена ДНК для молекулярно-генетического анализа. Испытывались праймеры *FocBNUf* и *FocBNUr*, которые амплифицировали участок гена *FocBo1* размером 1075 п.о., имеющие единичные полиморфизмы последовательности (SNP), различающиеся в устойчивых и восприимчивых образцах. В устойчивом образце фрагмент 1075 п.о. разрезается рестриктазой EcoRV на фрагменты 810 и 265 п.о. (табл. 1), в то время как в восприимчивом образце остается без изменений [17].

ПЦР анализ устойчивых линий с помощью маркера *FocBNUf/r* с последующим разрезанием продуктов ПЦР с рестриктазой EcoRV показал, что во всех протестирован-

Таблица 1. Используемые в исследовании праймеры к гену *FocBo1*.
Table 1. Information about the primers targeting *FocBo1* used in the current study.

Название праймера	Последовательность 5'-3'	Тотжиг	Энзим	Размер продукта в образце		Источник
				устойчивый	восприимчивый	
<i>FocBNUf</i>	AGATTGTGCAATTAACGCGACG	56°C	EcoRV	810 + 265 п.о.	1075 п.о.	[17]
<i>FocBNUr</i>	CATCCTCAGATTCCAAGCACAAC					

Результаты исследований и их обсуждение

Растения образцов Герцогиня F₁ и Поиск 2018 F₁ при заражении на инфекционном фоне *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* показали себя как устойчивые. Подавляющая часть растений сорта Слава 1305 погибала после заражения (рис. 1).



Рис. 1. Тестирование растений капусты на инфекционном фоне *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. Слева – восприимчивые растения погибают от поражения фузариозом.

Справа – устойчивые образцы
Fig. 1. White cabbage plants infected by *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans*. Susceptible plants are shown on the left. The resistant plants are shown on the right.

ных устойчивых растениях капусты происходило разрезание ПЦР продукта рестриктазой EcoRV на фрагменты 810 и 265 п.о. (рис. 2), в полном соответствии с результатами Sato с соавторами для устойчивых к фузариозу линий [17].

В неустойчивом образце Слава 1305 из 9 растений в 6 растениях не происходило разрезания ПЦР продукта размером 1075 п.о., показывая ожидаемое отсутствие устойчивой аллели. Однако также было обнаружено 2 гетерозиготных растения с восприимчивой и устойчивой аллелью – 1075 и 810+265 п.о., соответственно (рис. 3). Ген *FocBo1* является доминантным, но в гетерозиготе растения становятся более чувствительными к поражению фузариозом при высоких температурах [23]. Помимо этого, в выборке присутствовало одно гомозиготное устойчивое растение с фрагментами 810 и 265 п.о. Следовательно, в сорте Слава 1305 могут встречаться растения, имеющие одну или обе копии гена устойчивости, то есть Слава 1305 представляет собой гетерогенную популяцию по данному признаку. ПЦР анализ подобных разнородных популяций может быть использован для последующего отбора исходных форм для создания улучшенного сорта, устойчивого к фузариозному увяданию. Необходимо отметить, что первоначально, устойчивые к фузариозу растения белокочанной капусты также были отобраны из отдельных растений в популяциях сортотипов Hollander, Danish Ball Head, All Seasons и Brunswick [24].

Полученные данные показали, что маркер *FocBNUf/r* эффективно дифференцирует устойчивые и неустойчивые образцы, выявляя гомозиготные и гетерозиготные растения.

Для ускорения селекции данный маркер был применен к удвоенным гаплоидам капусты белокочанной, полученным из различных сортов и гибридов отечественной и зарубежной селекции (рис. 4А). ДН-линии были получены при культивировании микроспор селекционных образцов. ДНК выделялась из листьев 60 растений-регенерантов, и далее проводилась ПЦР с праймерами *FocBNUf/r* (рис. 4Б).

В результате проведенных исследований по изучению 60 ДН-линий из 12 генотипов различного срока созревания на устойчивость к фузариозу в 8 образцах отобрано

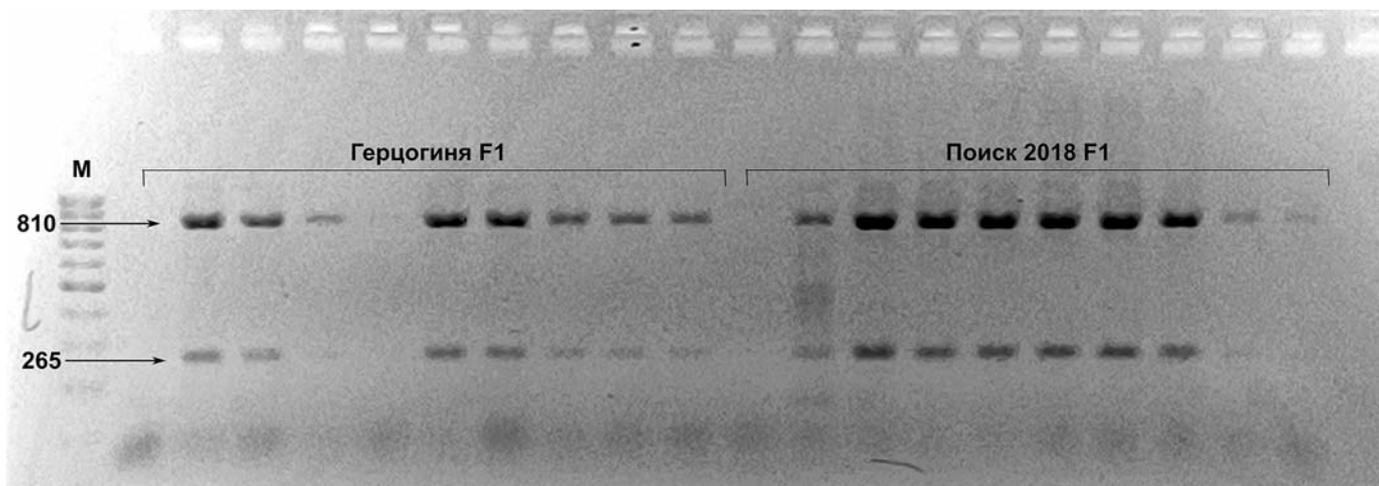


Рис. 2. ПЦР анализ двух устойчивых гибридов капусты белокочанной Герцогиня F₁ и Поиск 2018 F₁ с помощью маркера FocBNUf/r. В устойчивых образцах ПЦР фрагмент разрезается рестриктазой EcoRV на 2 фрагмента длиной 810 и 265 п.о. (указано стрелками). М – маркер длины.
Fig. 2. PCR analysis of two resistant white cabbage hybrids Gertsoginya F₁ and Poisk F₁ with FocBNUf/r primers. In the resistant samples, the PCR product was cut into fragments of 810 and 265 bp. The fragments are indicated by arrows. M - the DNA ladder.

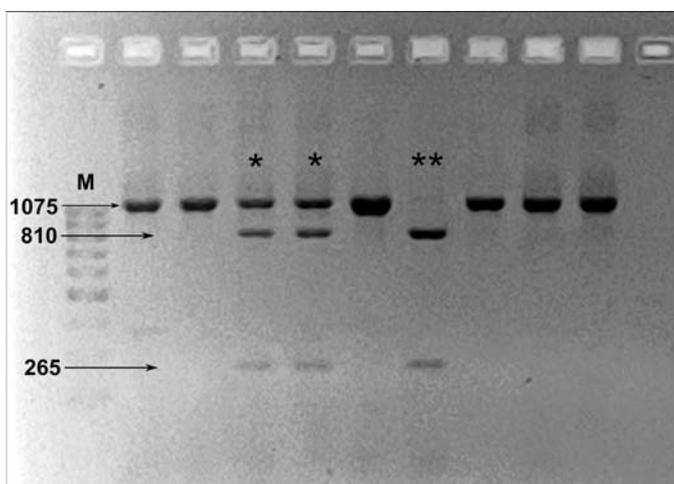


Рис. 3. ПЦР анализ восприимчивого образца капусты белокочанной Слава 1305 с помощью праймеров FocBNUf/r с последующей инкубацией ПЦР продуктов с рестриктазой EcoRV. В данном образце встречались неустойчивые растения, с ПЦР продуктами, которые не разрезались рестриктазой EcoRV (1075 п.о.), гетерозиготные образцы с фрагментами 1075, 810 и 265 п.о. (указано астерисками), а также устойчивый образец с фрагментами 810 и 265 п.о. (указано двойным астериском). Фрагменты указаны стрелками. М – маркер длины.
Fig. 3. PCR analysis of a susceptible white cabbage accession Slava 1305 with FocBNUf/r primers followed by incubation of PCR products with EcoRV restriction enzyme. The sample contained susceptible plants with PCR products that were not digested by the restriction enzyme EcoRV (1075 bp), heterozygous samples with 1075, 810 and 265 bp fragments (indicated by asterisks), as well as a resistant sample with 810 and 265 bp fragments (indicated by a double asterisk). The fragments are indicated by arrows. M - the DNA ladder

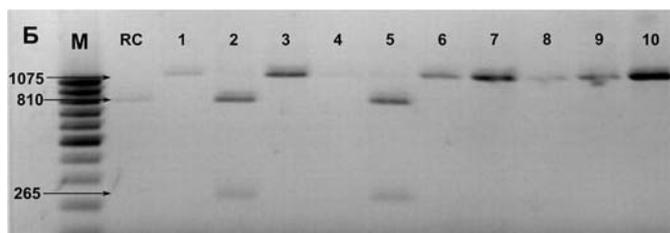


Рис. 4. Анализ ДН-линий капусты белокочанной на устойчивость к фузариозу. А. Внешний вид удвоенных гаплоидов, прошедших этап адаптации к условиям ex vitro. Б. Пример ПЦР анализа удвоенных гаплоидов генотипа 2302 на устойчивость к фузариозу. Обнаруживаются гомозиготные неустойчивые (1075 п.о.), и устойчивые (810 и 265 п.о.) генотипы. RC – устойчивый контроль Герцогиня F₁. М – маркер длины.
Fig. 4. The identification of fusarium resistance gene in cabbage doubled haploids. A. Doubled haploid regenerants after adaptation to ex vitro conditions. B. An example of PCR analysis of doubled haploids with fusarium resistance gene markers. Homozygous susceptible (1075 bp) and resistant (810 and 265 bp) genotypes were detected. RC - resistant control. M - the DNA ladder.

6,7-100% растений с наличием гена устойчивости к *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* в гомозиготном состоянии для дальнейшей работы (табл. 2). Наибольшее количество устойчивых растений отмечено у удвоенных гаплоидов генотипов 100, 1, 2306 – 100%. Всего выделено 18 растений удвоенных гаплоидов (38,6%). Полученные удвоенные гаплоиды генотипов 2307, 2308, 2403, 2406 не перспективны в работе на устойчивость по изучаемому признаку. Как и ожидалось, гетерозиготное состояние гена *FocBo1* не обнаруживалось ни в одном из протестированных удвоенных гаплоидов.

Таблица 2. Устойчивость и восприимчивость удвоенных гаплоидов капусты белокачанной к *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* согласно ПЦР анализу на наличие гена устойчивости к фузариозу
 Table 2. Resistance and susceptibility of doubled haploids of white cabbage to *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* according to PCR analysis revealing yellows resistance gene

Генотип	Изучено ДН-линий, шт.			%	
	всего	восприимчивых	устойчивых	восприимчивых	устойчивых
102-21	4	3	1	75	25
100	1	0	1	0	100
1	6	0	6	0	100
2	3	1	2	33,3	66,7
3	2	1	1	50,0	50,0
2302	20	17	3	85,0	15,0
2303	15	14	1	93,3	6,7
2306	3	0	3	0	100
2307	1	1	0	100	0
2311	1	1	0	100	0
2406	1	1	0	100	0
2403	3	3	0	100	0
Итого	60	42	18	61,4	38,6

Заключение

В результате проведенных исследований было показано, что маркер *FocBNUf/r* эффективно различает устойчивые и восприимчивые гибриды и сорта отечественной селекции. Ввиду того, что маркер является кодоминантным, он позволяет обнаруживать обе аллели и различать гомозиготные и гетерозиготные образцы. ПЦР-тестирование удвоенных гаплоидов на устойчивость к *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* позволило отобрать в 8 образцах 6,7-100% растений с наличием гена устойчивости к фузариозу в гомозиготном состоянии, а также

отбраковать удвоенные гаплоиды 4 генотипов как не перспективные для отбора на устойчивость по изучаемому признаку. Таким образом, селекция ускоряется не только за счет получения полностью гомозиготных линий – удвоенных гаплоидов – но и за счет отбора образцов, несущих необходимый признак, а именно, устойчивость к фузариозу, на ранней стадии развития растения. Разработка и апробация молекулярных маркеров к другим ценным генам позволит делать более эффективный отбор растений с интересующими селекционера признаками и ускорить селекционный процесс.

Литература / References

1. Пивоваров В.Ф., Бондарева Л.Л. Основные направления и результаты селекции семеноводства капустных культур во ВНИИССОК. *Овощи России*. 2013;(3):4-9. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2013-3-4-9> <https://www.elibrary.ru/rbjtkn> [Pivovarov V.F., Bondareva L.L. Main achievements of breeding and seed production of cole crops in VNISSOK. *Vegetable crops of Russia*. 2013;(3):4-9. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2013-3-4-9> <https://www.elibrary.ru/rbjtkn>]
2. Priyamedha, Ram B., Kumar A., Sharma H. K., Singh V. V. Genetics and Genomic Approaches for Disease Resistance in Brassicas. In *Brassica Improvement*, S. H. Wani, A. K. Thakur, and Y. Jeshima Khan, Eds., Cham: Springer International Publishing, 2020. pp. 147–157. https://doi.org/10.1007/978-3-030-34694-2_8
3. Koike S.T., Subbarao K.V., Davis R.M., Turini T.A. Vegetable Diseases Caused by Soilborne Pathogens. University of California *Agriculture and Natural Resources* 2003. <https://doi.org/10.3733/ucanr.8099>
4. Домблидес Е.А., Домблидес А.С., Заячковская Т.В., Бондарева

- Л.Л. Определение типа цитоплазмы у растений семейства капустные (*Brassicaceae* Burnett) с помощью ДНК маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(5):529–537. <https://doi.org/10.18699/VJ15.069> <https://www.elibrary.ru/vdublx> [Domblides E.A., Domblides A.S., Zayachkovskaya T.V., Bondareva L.L. Identification of cytoplasm types in accessions of the family Brassicaceae (*Brassicaceae* Burnett) with DNA markers. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2015;19(5):529–537. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ15.069> <https://www.elibrary.ru/vdublx>]
5. Zhao H.X., Li Z.J., Hu S.W., Sun G.L., Chang J.J., Zhang Z.H. Identification of cytoplasm types in rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by a multiplex PCR assay. *Theor. Appl. Genet.* 2010;121(4):643–650. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1336-3>
6. Kozar E.V., Domblides E.A. Imidazolinone Resistance in Oilseed Rape (*Brassica napus* L.): Current Status, Breeding, Molecular Markers and Prospects for Application in Hybrid Seed Purity Improvement, *Horticulturae*. 2024;10(6):553. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10060553>
7. Afrin K.S., Rahim A., Natarajan S. Screening of Cabbage (*Brassica oleracea* L.) Germplasm for Resistance to Black Rot. *Plant Breed. Biotechnol.* 2018;6(1):30–43. <https://doi.org/10.9787/PBB.2018.6.1.30>

8. Kifuji Y., Hanzawa H., Terasawa Y., Ashutosh, Nishio T. QTL analysis of black rot resistance in cabbage using newly developed EST-SNP markers. *Euphytica*. 2013;190(2):289–295. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0847-1>
9. Kawasaki M., Ohara T., Ishida M., Takahata Y., Hatakeyama K. Development of novel clubroot resistant rapeseed lines (*Brassica napus* L.) effective against Japanese field isolates by marker assisted selection. *Breed. Sci.* 2021;71(5):528–537. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.21014>
10. Pang W., Fu P., Li X., Zhan Z., Yu S., Piao Z. Identification and Mapping of the Clubroot Resistance Gene CRd in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). *Front. Plant Sci.* 2018;(9):653. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00653>
11. Karim M., Tonu N.N., Hossain Sh.M., Funaki T., Bahadur Meah M., Hossain D.M., Asad M. ud-d., Fukai E., Okazaki K. Marker-assisted selection of low erucic acid quantity in short duration *Brassica rapa*. *Euphytica*. 2016;208(3):535–544. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1596-8>
12. Blank L.M. *Fusarium* resistance in Wisconsin all seasons cabbage. *J. Agric. Res.* 1937;(55):407–510. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00354>
13. Liu X., Han F., Kong C., Fang Zh., et al. Rapid Introgression of the *Fusarium* Wilt Resistance Gene into an Elite Cabbage Line through the Combined Application of a Microspore Culture, Genome Background Analysis, and Disease Resistance-Specific Marker Assisted Foreground Selection. *Front. Plant Sci.* 2017;(8). <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00354>
14. Lv H., Kang J.-g., Wang Q.-b., Wang X.-w., et al. Development of InDel markers linked to *Fusarium* wilt resistance in cabbage. *Mol. Breed.* 2013;32(4):961–967. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9925-x>
15. Дубина Е.В., Макуха Ю.А., Артемьева А.М., Фатеев Д.А., Гаркуша С.В., Горун О.Л., Лесняк С.А. Молекулярное маркирование в селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) на устойчивость к фузариозному увяданию. *Генетика*. 2023;59(10):1004–1010. <https://doi.org/10.1134/S1022795423100034> <https://www.elibrary.ru/ztyenzi> [Dubina E.V., Makukha Yu.A., Artem'eva A.M., Fateev D.A., Garkusha S.V., Gorun O.L., Lesnyak S.A. Molecular Marking in *Brassica oleracea* L. Breeding for Resistance to *Fusarium* Wilt. *Russ. J. Genet.* 2023;59(10):1004–1010. (In Russ.) <https://doi.org/10.1134/S1022795423100034> <https://www.elibrary.ru/ztyenzi>]
16. Shimizu M., Pu Z.-j., Kawanabe T., Kitashiba H., et al. Map-based cloning of a candidate gene conferring *Fusarium* yellows resistance in *Brassica oleracea*. *Theor. Appl. Genet.* 2015;128(1):119–130. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2416-6>
17. Sato M., Shimizu M., Shea D.J., Hoque M., Kawanabe T., Miyaji N., Fujimoto R., Fukai E., Okazaki K. Allele specific DNA marker for *fusarium* resistance gene *FocBo1* in *Brassica oleracea*. *Breed. Sci.* 2019;69(2):308–315. <https://doi.org/10.1270/jsbbs.18156>
18. Королева С.В. Иммунологическая оценка селекционного материала при создании гибридов F₁ белокочанной капусты с групповой устойчивостью к фузариозу и сосудистому бактериозу. Москва, 2012. [Koroleva S.V., Immunological evaluation of breeding material in the creation of F₁ hybrids of white cabbage with group resistance to *fusarium* and vascular bacteriosis. Moscow, 2012. (In Russ.)]
19. Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Супрунова Т.П. Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(1):111. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ15.014> <https://www.elibrary.ru/twqxtp> [Shmykova N.A., Shumilina D.V., Suprunova T. P. Doubled haploid production in *Brassica* L. *Vavilov J. Genet. Breed.* 2015;19(1):111. (In Russ.) <https://doi.org/10.18699/VJ15.014> <https://www.elibrary.ru/twqxtp>]
20. Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Заячковская Т.В., Минейкина А.И., Козарь Е.В., Ахраменко В.А., Шевченко Л.Л., Кан Л.Ю., Бондарева Л.Л., Домблидес А.С. Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор семейства капустные : методические рекомендации. М., 2016. 40 с. ISBN: 978-5-901695-71-5. <https://www.elibrary.ru/frlmod> [Domblides E.A., Shmykova N.A., Shumilina D.V., Zayachkovskaya T.V., Mineikina A.I., Kozar E.V., Akhramenko V.A., Shevchenko L.L., Kan L.Yu., Bondareva L.L., Domblides A.S. Technology of obtaining doubled haploids in the culture of microspores of the cabbage family: methodological recommendations. M., 2016. 40 p. (In Russ.)]
21. Fomicheva M., Domblides E. Mastering DNA Content Estimation by Flow Cytometry as an Efficient Tool for Plant Breeding and Biodiversity Research. *Methods Protoc.* 2023;6(1):18. <https://doi.org/10.3390/mps6010018>
22. Doyle J. DNA Protocols for Plants. In *Molecular Techniques in Taxonomy*. G.M. Hewitt, A.W.B. Johnston and J.P.W. Young Eds. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1991. pp. 283–293. https://doi.org/10.1007/978-3-642-83962-7_18
23. Pu Z., Shimizu M., Zhang Y.-j., Nagaoka T., Hayashi T., Hori H., Matsumoto S., Fujimoto R., Okazaki K. Genetic mapping of a *fusarium* wilt resistance gene in *Brassica oleracea*. *Mol. Breed.* 2012;30(2):809–818. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9665-8>
24. Walker J.C. *Fusarium* resistant cabbage. *Botanical Gazette*. 1922;73(2):155-157. <https://doi.org/10.1086/332969>

Об авторах:

Мария Григорьевна Фомичева – кандидат биол. наук, научный сотрудник лаборатории репродуктивной биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>, SPIN-код: 3219-3462, автор для переписки, maria.fomicheva.1@yandex.ru

Галина Александровна Костенко – кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, Селекционно-семеноводческого центра, Лаборатории селекции и семеноводства овощных культур открытого и защищенного грунта для условий Центральной Нечерноземной зоны, Сектор селекции и семеноводства капустных культур, SPIN-код: 8829-1027, kostenko@poiskseeds.ru

Артур Сергеевич Домблидес — доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной генетики и цитологии, <https://orcid.org/0000-0002-5617-9498>, SPIN-код: 3884-5069, arthurdom@inbox.ru

About the Authors:

Maria G. Fomicheva – Cand. Sci. (Biology), Researcher at the Laboratory of Reproductive Biotechnology for Agricultural Plant Breeding, <https://orcid.org/0000-0002-0281-0467>, SPIN-code: 3219-3462,

Correspondence Author, maria.fomicheva.1@yandex.ru

Galina A. Kostenko – Cand. Sci. (Agriculture), Leading Researcher, Breeding and Seed Center, Laboratory of Breeding and Seed Growing of Vegetable Crops of Open and Protected Ground or the Conditions of the Central Non-Chernozem zone, Sector of Breeding and Seed Growing of Cabbage Crops, SPIN-code: 8829-1027, kostenko@poiskseeds.ru

Arthur S. Domblides – Dr. Sci. (Agriculte), Head of the Laboratory of Molecular Genetics and Cytology, <https://orcid.org/0000-0002-5617-9498>, SPIN-code: 3884-5069, arthurdom@inbox.ru