

О. Г. Бабак¹, С. И. Игнатова², Н. А. Голубкина³, Н. А. Некрашевич¹, Н. В. Анисимова¹,
Т. В. Никитинская¹, К. К. Яцевич¹, академик А. В. Кильчевский¹

¹Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Федеральный научный центр овощеводства, Верей, Российская Федерация

³Федеральный научный центр овощеводства, ВНИИССОК, Российская Федерация

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *SLMYB12*, ДЕТЕРМИНИРУЮЩЕГО БИОСИНТЕЗ ХАЛКОН-НАРИНГЕНИНА В КОЖИЦЕ ПЛОДОВ ТОМАТА, И ЕГО ВЛИЯНИЯ НА НАКОПЛЕНИЕ ЛИКОПИНА

Аннотация. Оценена эффективность выявления форм томата с отсутствием флавоноида халкон-нарингенина в розовоплодных и желтоплодных формах с помощью ДНК-маркеров к различным полиморфизмам гена *SLMYB12*. Показана наиболее тесная связь между фенотипом с прозрачной кожицей плодов и делецией в промоторной области гена *SLMYB12*. Установлена наибольшая эффективность выявления рецессивного аллеля у регуляторного гена *SLMYB12*, приводящего к нарушению синтеза халкон-нарингенина и прозрачности кожицы, сочетанием маркеров MYB12-603del-aF1/603del-aR6 (Myb-603del aF1/R6) и MYB12-603del-aF1/603del-aR5 (Myb12 aF1/R5). Показаны особенности окраски плодов в зависимости от комбинации структурных аллелей пути биосинтеза каротиноидов и аллелей гена *SLMYB12*. Сочетание данного аллеля у с аллелями гена ликопин-β-циклазы *beta* (*b*) и *old gold crimson* (*og^c*) позволяет отобрать розовые и малиновые формы соответственно. У образцов томата с желтой и оранжевой окраской плодов аллель у обеспечивает бледные оттенки основных окрасок, обусловленных генами биосинтеза каротиноидов (*yellow flesh* (*r*), *tangerine* (*t*), *Beta* (*B*)). Выявлено наличие SNP T → C гена *SLMYB12* (позиция 71476848 хромосомы 1) у 80 % образцов с прозрачной кожицей плодов оцениваемой коллекции. Показано влияние рецессивного аллеля у гена *SLMYB12* на увеличение концентрации ликопина в плодах томата в комбинации с аллелями *b*, *og^c*. С использованием методов MAC по генам качества плодов, в том числе по гену *SLMYB12*, создан и включен в Государственный реестр сорт томата черри Малиновый коктейль с высоким накоплением ликопина.

Ключевые слова: томат, генетические маркеры, каротиноиды, халкон-нарингенин

Для цитирования. Анализ полиморфизма гена *SLMYB12*, детерминирующего биосинтез халкон-нарингенина в кожице плодов томата, и его влияния на накопление ликопина / О. Г. Бабак [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2020. – Т. 64, № 6. – С. 702–712. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-6-702-712>

Olga G. Babak¹, Svetlana I. Ignatova², Nadezhda A. Golubkina³, Nataliya A. Nekrashevich¹, Nataliya A. Anisimova¹,
Tatiana V. Nikitinskaya¹, Konstantiya K. Yatsevich¹, Academician Alexander V. Kilchevsky¹

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Federal Scientific Centre for Vegetable Growing, Vereya, Russian Federation

³Federal Scientific Centre for Vegetable Growing, VNIISOK, Russian Federation

ANALYSIS OF *SLMYB12* GENE POLYMORPHISM DETERMINING CHALCONE-NARINGENIN BIOSYNTHESIS IN THE SKIN OF TOMATO FRUITS AND ITS EFFECT ON THE LYCOPENE ACCUMULATION

Abstract. Efficiency in detecting of tomato forms with no chalcone-naringenin flavonoid in pink-fruited and yellow-fruited forms was evaluated using DNA markers for various polymorphisms of the *SLMYB12* gene. The closest relationship between a phenotype with the transparent skin of fruits and a deletion in the promoter region of the *SLMYB12* gene was shown. The highest efficiency in the detection of the recessive *y* allele of the regulatory *SLMYB12* gene, leading to the chalcone-naringenin synthesis disruption and skin transparency, was established by a combination of markers MYB12-603del-aF1/603del-aR6 (Myb-603del aF1/R6) and MYB12-603del-aF1/603del-aR5 (Myb12 aF1/R5). Fruit coloration peculiarities were shown depending on a combination of the structural alleles of a carotenoid biosynthesis pathway and *SLMYB12* gene alleles. A combination of this *y* allele with the alleles of the gene of the lycopene-β-cyclase *beta* (*b*) and *old gold crimson* (*og^c*) allows selecting pink and raspberry forms respectively. In tomato accessions with yellow and orange fruits, the *y* allele provides pale shades of the main coloration determined by carotenoid biosynthesis genes (*yellow flesh* (*r*), *tangerine* (*t*), *Beta* (*B*)). The presence of SNP T → C of the *SLMYB12* gene (171476848 position of chromosome 1) was identified in 80 % of accessions with the transparent skin of fruits of the evaluated collection. The effect of the recessive *y* allele of the *SLMYB12* gene on an increase in the lycopene concentration of tomato fruits in a combination with *b*, *og^c* alleles was shown. Using MAC methods

by fruit quality genes, including the *SIMYB12* gene, the cherry tomato variety Malinovyj koktel with a high lycopene accumulation was developed and included in the State Register.

Keywords: tomato, genetic markers, carotenoids, chalcone-naringenin

For citation: Babak O. G., Ignatova S. I., Golubkina N. A., Nekrashevich N. A., Anisimova N. A., Nikitinskaya T. V., Yatshevich K. K., Kilchevsky A. V. Analysis of *SIMYB12* gene polymorphism determining chalcone-naringenin biosynthesis in the skin of tomato fruits and its effect on the lycopene accumulation. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2020, vol. 64, no. 6, pp. 702–712 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2020-64-6-702-712>

Введение. Использование методов молекулярного маркирования является одним из важнейших инструментов в селекции томата на качество плодов. Работы по ДНК-типированию хозяйственно ценных признаков весьма эффективно ведутся в мировых научных центрах как на этапе подбора исходных источников для гибридизации, так и при последующем анализе гибридного материала и созданных форм. В выполненных ранее исследованиях нами разработаны методические основы ДНК-маркирования генов длительной сохранности плодов (*nor*, *nor^d*, *rin*) и каротиноидов (*r*, *t*, *og*, *og^c*, *B*, *gf-3*, *hp-1*, *hp-2^{ds}*) у томата, отобраны образцы с интересующими аллелями. В ходе выполнения ступенчатой гибридизации и отборов созданы формы с сочетаниями структурных и регуляторных аллелей, обеспечивающих различную окраску плодов и высокое накопление каротиноидов [1–3]. Наряду с данными исследованиями представляет интерес изучение особенностей проявления окраски плодов и накопления пигментов в зависимости от аллелей, детерминирующих синтез определенных флавоноидов. Одним из важных для томата флавоноидов, влияющих на качество плодов, является халкон-нарингенин (далее халкон). Накапливаясь в клетках эпидермиса плодов, он выполняет, прежде всего, защитные функции. Регуляция синтеза халкона связана с полиморфизмом гена транскрипционного фактора *SIMYB12*, расположенного на хромосоме 1 [4]. Локус гена *SIMYB12* имеет доминантный и рецессивный аллели. Наличие доминантного аллеля *Y* обеспечивает накопление халкона и желтый цвет кожицы. Для рецессивного аллеля *y* характерна делеция размером 603 п. н. в промоторной области, приводящая к нарушению синтеза халкона в кожице плодов и ее прозрачности [5]. Наряду с вышеуказанной делецией, K. Veerappan, H. J. Jung и соавт. связывают отсутствие халкона в кожице плодов с выявленной однонуклеотидной вставкой и четырьмя нуклеотидными заменами [6; 7]. При этом В. Kim и соавт. при изучении полиморфизма данного гена связывают нарушение синтеза халкона с присутствием семи однонуклеотидных замен в экзонах, не находя отличий в промоторной области гена [8].

В литературе полиморфизм гена *SIMYB12* изучается в связи с возможностью выявлять формы томата с розовой окраской плодов. Данная окраска проявляется у форм с преимущественным накоплением ликопина и прозрачной кожицей плодов. При этом литературных данных о полиморфизме гена *SIMYB12* у желтоплодных форм нет.

Исходя из вышеуказанного, целью данных исследований было дальнейшее изучение генетических механизмов накопления пигментов в плодах томата в зависимости от комбинации аллелей структурных генов биосинтеза каротиноидов и гена *SIMYB12*, регулирующего синтез халкон-нарингенина, а также совершенствование методов ДНК-типирования аллелей качества плодов. Для достижения указанных целей были поставлены следующие задачи: оценка методов ДНК-типирования известных полиморфизмов гена *SIMYB12*; ДНК-типирование широкой коллекции форм томата на наличие данных полиморфизмов; изучение особенностей проявления окраски плодов и накопления каротиноидов у форм томата в зависимости от сочетания аллелей структурного гена ликопин-β-циклазы (*CYCB*) и транскрипционного фактора *SIMYB12*; выделение селекционных образцов с максимальным накоплением каротиноидов.

Материалы и методы исследования. Материалом для оценки полиморфизма служили коллекции форм томата Института генетики и цитологии и селекционно-семеноводческой агрофирмы (ССАФ) «Ильинична» – ВНИИО филиал Федерального научного центра овощеводства (ФГБНУ ФНЦО, Россия).

Для оценки эффективности методов ДНК-типирования аллелей гена *SIMYB12* использованы коллекции красноплодных (от розовых до темно-красных) и желтоплодных (от светло-желтых до оранжевых) форм с различными сочетаниями аллелей структурных и регуляторных генов.

Для оценки влияния аллелей гена *SIMYB12* на накопление каротиноидов были отобраны образцы томата с тремя аллелями структурного гена *CYCB* и регуляторных генов, обеспечивающих различное накопление каротиноидов. Отобранные генотипы включали следующие аллели гена хромoplast-специфической ликопин β -циклазы (*CYCB*): *beta* (*b* из *S. Lycopersicum*), *Beta carotene* (*B* из *S. pennellii*), *old-gold crimson* (*og^c* – мутация в *beta*). Наличие аллеля *b* определяет синтез преимущественно ликопина и в меньшей степени β -каротина. Аллель *B* способствует повышенному накоплению β -каротина, а мутация *og^c* приводит к повышенному синтезу ликопина [9]. В комбинацию регуляторных генов входили: аллель *ripening inhibitor* (*rin*) транскрипционного фактора LeMADS-Rin, замедляющий синтез каротиноидов [10], аллель *high pigment 2 dark green* (*hp-2^{dg}*) гена *HP-2*, регулирующий работу фоторецепторов и контролирующий размер клеток и число хлоропластов [11], и аллель *green flesh-3* (*gf-3*) регуляторного фактора Stay-green, кодирующий способность не разрушать хлорофилл в начале созревания плодов [12]. Наряду с вышеуказанными комбинациями, использованы формы с *b* и *og^c* аллелями в сочетании с *Y* и *y* аллелями гена *SIMYB12* (*Y* и *y*), регулирующего накопление флавоноида халкона в коже плодов томата [5].

Этапы молекулярного анализа (выделение ДНК, амплификация и анализ продуктов амплификации) выполнены с использованием методических рекомендаций «ДНК-типирование генов качества плодов и устойчивости к болезням томата» [2].

Для изучения роста и развития форм томата с различной комбинацией генов качества проведены испытания изучаемых форм в условиях остекленных теплиц опытной станции Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

Анализ каротиноидного состава изучаемых образцов проводился в лабораторно-аналитическом отделе ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» методом тонкослойной хроматографии на хроматографической бумаге Ватман А3 в системе гексан-ацетон 10 : 0,5. Концентрацию индивидуальных каротиноидов после элюирования с бумаги определяли спектрофотометрически по величине поглощения при 451 нм (бета-каротин), 470 нм (ликопин) и 445 нм (лютеин), используя в качестве стандартов образцы указанных каротиноидов (Sigma) [13].

Результаты и их обсуждение. Оценка эффективности методов ДНК-типирования аллелей гена *SIMYB12*. На первом этапе работы выполнена оценка эффективности выявления розово-плодных форм с помощью известных в литературе маркеров к следующим полиморфизмам гена *SIMYB12*, связанным с нарушением синтеза халкона: делеции размером 603 п. н. в промоторной области, описываемой K. Veegarran и соавт. [6; 7] и группы SNP, выявленной В. Kim и соавт. [8].

Для идентификации делеции размером 603 п. н. в гене фактора транскрипции *SIMYB12* разработчиками [6] предложены SCAR маркеры MYB12-603del-aF1/R6 и MYB12-603del-aF1/R5 (603del-aF1 – gtagcgaacaaccgaacctaagaataa; 603del-aR5 – gcggacaaagttaattggtcactca; 603del-aR6 – attctagcgttatcagtcggcatacad). В результате применения пары праймеров 603del-aF1/aR5 амплифицируется один продукт размером 614 п. н. у форм с отсутствием делеции, а пары праймеров 603del-aF1/aR6 – амплифицируются 2 продукта размером 347 и 950 п. н., характеризующих наличие или отсутствие делеции. Согласно авторам, у образцов с геном *SIMYB12*, обеспечивающим нормальный синтез халкона, синтезируются два продукта размером 950 и 614 п. н., а у растений с делетированным геном *SIMYB12* (розовые плоды) синтезируется только один продукт размером 347 п. н. У растений, гетерозиготных по данному гену, синтезируются все три продукта. С помощью данных праймеров выполнено ДНК-типирование гена *SIMYB12* на широкой коллекции форм с розовой и красной окраской плодов. На рис. 1 представлены результаты апробации предложенных маркеров с объединением продуктов ПЦР в одном фореze.

Согласно полученным данным и их сопоставлению с фенотипическим проявлением окраски плодов, у всех образцов используемой нами коллекции розовоплодных форм идентифицирована делеция ожидаемого размера (347 п. н.). У форм с ненарушенным синтезом халкона (красноплодные формы № 11, 12 – F₁ Медина, № 23, 24 – Индиго, № 25, 26 – LA 1996) на электрофореграмме наблюдались две полосы ожидаемых фрагментов 614 и 950 п. н. При этом у гетерозиготных форм (№ 13, 14 – F₁ Pink bush и № 27, 28 – F₂ из Виктория) четко идентифицируются только два фрагмента – 347 и 614 п. н., в отличие от описываемых авторами трех фрагментов. Следует отме-

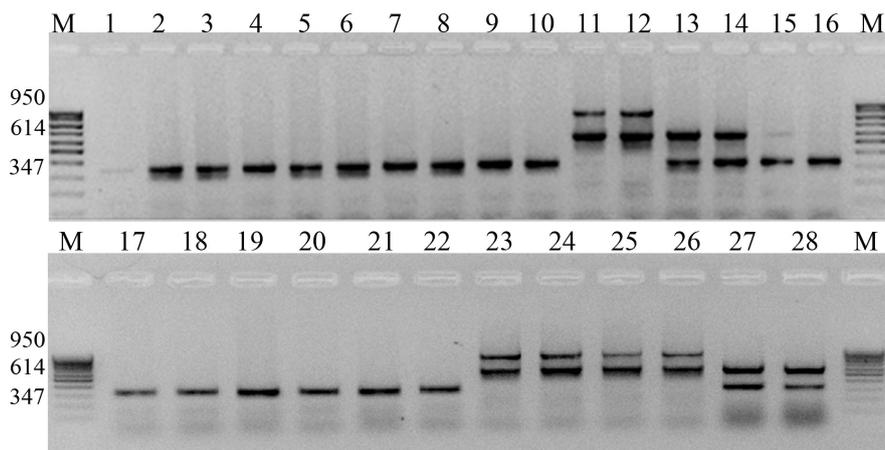


Рис. 1. Результаты амплификации ДНК коллекции розовоплодных форм томата с праймерами к маркерам MYB12-603del-aF1/aR5 и MYB12-603del-aF1/R6: 1, 2 – Малиновые пикули (№ 6322ВИР); 3, 4 – Лотос (ВНИИССОК); 5, 6 – Хабаровский розовый; 7, 8 – Розовое сердце; 9, 10 – Крымское яблоко; 11, 12 – F₁ Медина; 13, 14 – F₁ Pink bush; 15, 16 – Темно-розовый; 17, 18 – Крупный розовый; 19, 20 – Малиновый штамбовый; 21, 22 – Pink paradise; 23, 24 – Индиго; 25, 26 – LA 1996 (*Aft*, *Y*); 27, 28 – F₂ из Виктория

Fig. 1. DNA amplification results of the pink-fruited tomato collection with primers to the markers MYB12-603del-aF1/aR5 and MYB12-603del-aF1/R6: 1, 2 – Malinovyе pikuli (No. 6322VIR); 3, 4 – Lotos (VNISSOK); 5, 6 – Habarovskiy rozovyy; 7, 8 – Rozovoe serdtse; 9, 10 – Krymskoye yabloko; 11, 12 – F₁ Medina; 13, 14 – F₁ Pink bush; 15, 16 – Temno-rozovyy; 17, 18 – Krupnyy rozovyy; 19, 20 – Malinovy shtambovy; 21, 22 – Pink paradise; 23, 24 – Indigo; 25, 26 – LA 1996 (*Aft*, *Y*); 27, 28 – F₂ from Viktoria

тить, что на рисунках авторов фрагмент размером 950 п. н. проявляется значительно слабее, чем 614 и 347. Учитывая, что все 3 фрагмента имеют общую область синтеза (рис. 2, *a*), фрагмент меньшего веса синтезируется быстрее, и, как следствие, его проявление на электрофореграмме более яркое (рис. 2, *b*).

Наряду с розовоплодными и красноплодными формами нами проведена апробация маркеров Myb-603del aF1/R6 и Myb12 aF1/R5 на формах с различными оттенками желтой и оранжевой окраски плодов. Необходимо отметить, что различные оттенки желтоокрашенных плодов определяются рядом структурных (*r*, *t*, *del*, *B*) аллелей пути биосинтеза каротиноидов и регуляторных аллелей (*nor*, *rin* и др.), поэтому без отделения эпидермиса зрительно сложно выделить плоды с отсутствием халкона в кожице. На рис. 3 показано разделение продуктов амплификации ряда образцов с различными структурными и регуляторными аллелями с каждым маркером отдельно. Как и на рис. 1, при использовании пары праймеров aF1/aR6 (рис. 3, *a*) у образцов с наличием делеции продукт размером 950 п. н. не образуется в достаточном для проявления на форе

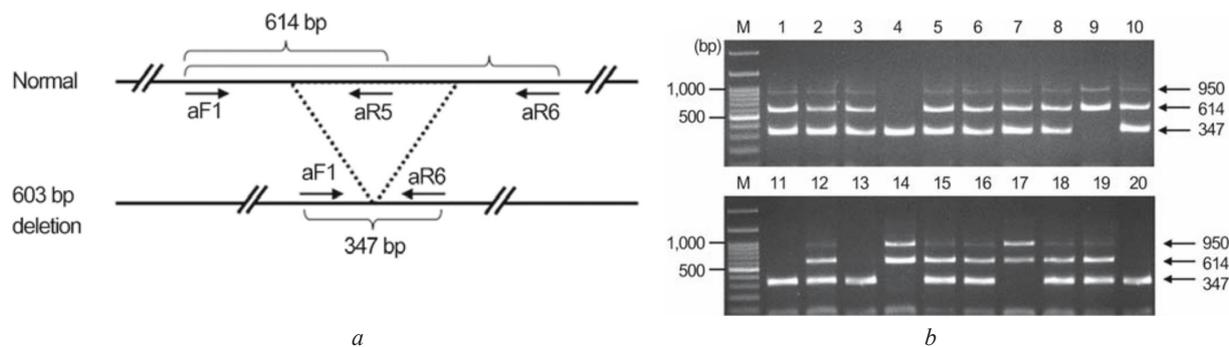


Рис. 2. Позиции праймеров и размера продуктов амплификации для идентификации делеции размером 603 п. н. (*a*); гель-электрофорез продуктов амплификации с праймерами aF1/aR5 и aF1/R6 (*b*) [6]

Fig. 2. Primer positions and the size of amplification products to identify a 603 bp deletion (*a*); Gel electrophoresis of amplification products with the primers aF1/aR5 and aF1/R6 (*b*) [6]

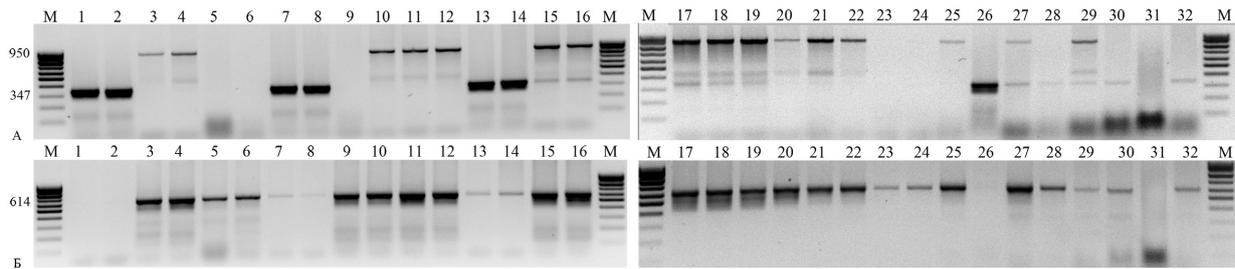


Рис. 3. Результаты амплификации ДНК желтоплодных форм томата с праймерами к маркерам Myb-603del aF1/R6 и Myb12 aF1/R5: 1, 2 – Большой пломбир; 3, 4 – Луч; 5, 6 – Золотой; 7, 8 – Дачные; 9, 10 – LTN_A; 11, 12 – LTN_M; 13, 14 – LA3381 (y); 15, 16 – LA3811; 17, 18 – LA3375; 19, 20 – LBPN_D; 21, 22 – LBPR_D; 23, 24 – LBGND_D; 25 – Mini gold; 26 – Желтые пальчики; 27, 28 – ЖЧ 1; 29, 30 – ЖЧ 2; 31, 32 – ОЧ

Fig. 3. DNA amplification results of the yellow fruit tomato collection with primers to the Myb-603del aF1/R6 and Myb12 aF1/R5 markers: 1, 2 – Bolshoi plombir; 3, 4 – Luch; 5, 6 – Zolotoi; 7, 8 – Dachnye; 9, 10 – LTN_A; 11, 12 – LTN_M; 13, 14 – LA3381 (y); 15, 16 – LA3811; 17, 18 – LA3375; 19, 20 – LBPN_D; 21, 22 – LBPR_D; 23, 24 – LBGND_D; 25 – Mini gold; 26 – Zholytye palchiki; 27, 28 – ZhCh1; 29, 30 – ZhCh2; 31, 32 – OCh

количестве. Наряду с образцом LA3381 с рецессивным аллелем y, который является контрольным (из коллекции калифорнийского банка генетических ресурсов томата), полученные результаты позволили выявить наличие данного аллеля у образцов Большой пломбир, Дачные, Желтые пальчики.

Сравнение полученных данных ДНК-типирования с фенотипом подтвердило наличие искомой делеции у форм с отсутствием халкона в коже плодов. Как и у красноплодных форм, желтоплодные формы с выявленной делецией имели прозрачную кожу (рис. 4).

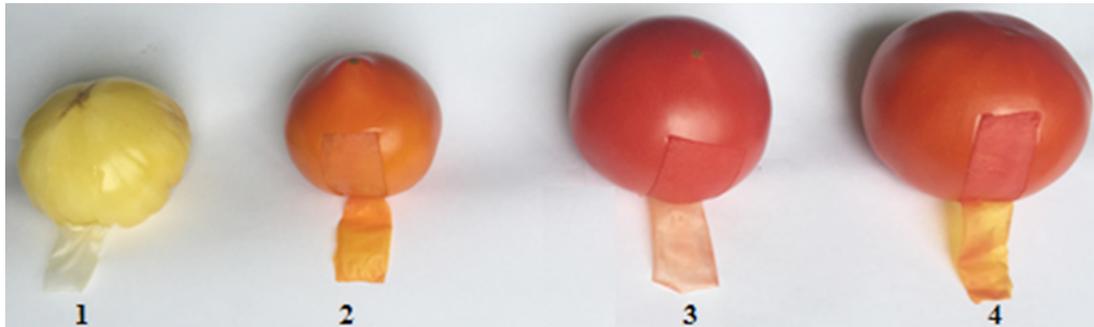


Рис. 4. Окраска кожи плодов у форм с различными аллелями гена *SIMYB12*: 1 – Большой пломбир (r, b, y); 2 – LBPN_D (B, hp2^{del}, Y); 3 – Галактика (b, y); 4 – Бумеранг (b, Y)

Fig. 4. Fruit skin coloration in forms with different alleles of the *SIMYB12* gene: 1 – Bolshoi plombir (r, b, y); 2 – LBPN_D (B, hp2^{del}, Y); 3 – Galaktika (b, y); 4 – Bumerang (b, Y)

Для идентификации однонуклеотидной замены Т → С (позиция 71476848 хромосомы 1), предлагаемой В. Kim и соавт. как наиболее эффективной для отбора розовоплодных форм, использован CAPS-38123F/R_ *MnI* маркер (F – TCCTGTAGTGCAGCACTACCACCT; R – CCAATCTTGGTGGACAGAGTT) [8]. Для выявления ожидаемой SNP должен синтезироваться продукт размером 178 п. н. После применения фермента *MnI* у растений с красными плодами продукт остается неизменным, а у растений с розовыми плодами образуются продукты размером 124 и 54 п. н. (рис. 5).

ДНК-типирование образцов томата с маркером 38123F/R_ *MnI* выявило четыре формы (Крымское яблоко, Pink bush, Индиго и LA3381 (Y)) с наличием доминантного аллеля Y гена *SIMYB12* (желтая окраска эпидермиса). Образцы Индиго и LA3381 являются красноплодными. Плоды форм Крымское яблоко, Pink bush при этом имеют розовую окраску. По результатам ДНК-типирования делеции в промоторной области гена *SIMYB12*, образец Pink bush является гетерозиготным по данному аллелю, что объясняет наличие неразрезанной части продукта, наряду

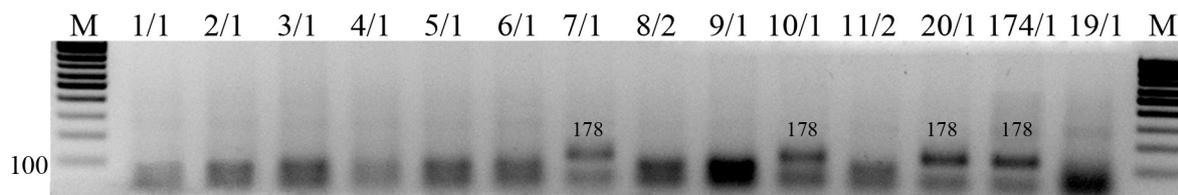


Рис. 5. Результаты амплификации ДНК розовоплодных форм томата с праймерами 38123F/38123R и последующей рестрикцией ферментом *MnlI*: 1/1 – Крупный розовый; 2/1 – Малиновые пикули (№ 6322ВИР); 3/1 – Малиновый штамбовый; 4/1 – Лотос (ВНИИССОК); 5/1 – Хабаровский розовый; 6/1 – Розовое сердце; 7/1 – Крымское яблоко; 8/2 – Медина (F₁); 9/1 – Pink paradise; 10/1 – Punk bush; 11/2 – Темно-розовый; 20/1 – Индиго; 174/1 – LA (Aft); 19/1 – F₂ Виктория

Fig. 5. DNA amplification results of pink-fruited tomato forms with primers to the 38123F/38123R marker and the subsequent restriction with the *MnlI* enzyme: 1/1 – Krupnyi rozovyi; 2/1 – Malinovyie pikuli (No. 6322VIR); 3/1 – Malinovyii shtambovyi; 4/1 – Lotos (VNISSOK); 5/1 – Khabarovskiy rozovyi; 6/1 – Rozovoe serdtse; 7/1 – Krymskoe yabloko; 8/2 – F₁ Medina; 9/1 – Pink paradise; 10/1 – Pink bush; 11/2 – Temno-rozovyi; 20/1 – Indigo; 174/1 – LA (Aft); 19/1 – F₂ Viktoria

с разрезанной. Остальные розовоплодные формы (10 из 12) имели продукты, полностью разрезанные ферментом *MnlI*. Таким образом, при ДНК-типировании делеции в промоторной области и SNP в экзонной области на нашей коллекции розовоплодных форм наблюдались различия у одного образца – Крымское яблоко, у которого основная окраска плода розовая (с полосами желто-зеленого цвета, обусловленными наличием гена *gs*), но с помощью маркера 38123F/R_ *MnlI* она не выявлялась. Образец Медина, имеющий красно-розовую окраску, характеризовался отсутствием делеции, но при этом у него наблюдалась нуклеотидная замена, характерная, согласно В. Kim, для форм с прозрачной кожицей.

Наряду с красно- и розовоплодными формами, был проанализирован полиморфизм желтоплодных форм по изучаемой однонуклеотидной замене. В качестве контроля использовали формы LA 3381и LA 3811, а также по 2 розовоплодные и красноплодные формы (рис. 6).

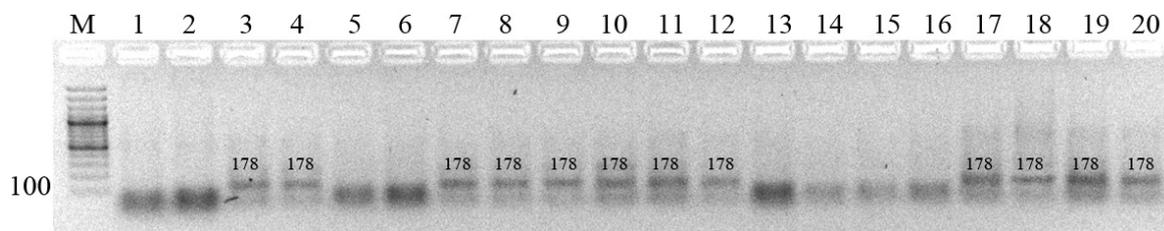


Рис. 6. Результаты амплификации ДНК форм томата с различной окраской плодов с праймерами к маркеру 38123F/38123R и последующей рестрикцией ферментом *MnlI*: 1, 2 – Большой пломбир; 3, 4 – Дачные; 5, 6 – Желтые пальчики; 7, 8 – LA 3381 (y); 9, 10 – LBPR_д; 11, 12 – LA 3811 (Y); 13, 14 – Малиновый коктейль; 15, 16 – Л 289-15; 17, 18 – Л 160-15; 19, 20 – Г 960

Fig. 6. DNA amplification results of tomato forms with different fruit coloration with primers to the 38123F/38123R marker and the subsequent restriction with the *MnlI* enzyme: 1, 2 – Bolshoi plombir; 3, 4 – Dachnye; 5, 6 – Zholtые palchiki; 7, 8 – LA 3381 (y); 9, 10 – LBPR_д; 11, 12 – LA 3811 (Y); 13, 14 – Malinovyii kokteil; 15, 16 – L 289-15; 17, 18 – L 160-15; 19, 20 – G 960

Сопоставление результатов ДНК-типирования с помощью маркеров, предлагаемых различными авторами, представлено в табл. 1. Согласно представленным данным из 16 форм с делецией в промоторной области 13 форм подтвердили возможность типирования образцов без накопления халкона в кожице плодов с помощью оцениваемого CAPS маркера. При этом у одной розовоплодной и двух желтоплодных форм с прозрачной кожицей возможность оценки с помощью CAPS маркера 38123F/R_ *MnlI* не подтвердилась.

Кроме того, учитывая, что при использовании CAPS маркера 38123F/R_ *MnlI* продукты рестрикции имеют небольшие размеры, и часто после рестрикции в нижней части электрофореграмм остаются случайные мелкие фрагменты, является сложным выделение гетерозиготных образцов с использованием данного маркера.

Т а б л и ц а 1. Результаты ДНК-типирования маркеров розовоплодности на коллекции форм томата

T a b l e 1. DNA typing results of pink fruit markers for the collection of tomato forms

Наименование образца Sample name	MYB12-603del (делеция 603 п. н.)	38123F/R_ Mnl1 (SNP T→C)	Окраска плода Fruit color
Крупный розовый	+	+	Розовая
Малиновые пикули	+	+	Розовая
Малиновый штамбовый	+	+	Розовая
Лотос	+	+	Розовая
Хабаровский розовый	+	+	Розовая
Розовое сердце	+	+	Розовая
Крымское яблоко	+	–	Розовая
Медина	–	+	Красно-розовая
Pink paradise	+	+	Розовая
Pink bush	+/-	–	Ярко-розовая
Темно-розовый	+/-	+	Темно-розовая
Индиго (<i>Ant</i> , <i>Y</i>)	–	–	Красно-фиолетовая
LA 1996 (<i>Aft</i> , <i>Y</i>)	–	–	Красная
Виктория	+/-	+	Розовая
Л 289-15	+	+	Розовая
Л 160-15	–	–	Красная
Г 960	–	–	Красная
Малиновый коктейль	+	+	Розовая
LA3811(<i>Y</i> , <i>gf</i> , <i>r</i>)	–	–	Желтая
LBP _N _д	–	–	Ярко-желтая
LA3381(<i>y</i> , <i>r</i>)	+	–	Бледно-желтая
Желтые пальчики	+	+	Желтая
Дачный	+	–	Желтая
Большой пломбир	+	+	Бледно-желтая

П р и м е ч а н и е: «+» и «–» – наличие/отсутствие полиморфизма, связанного с нарушением синтеза халкона в кожице плодов, «+/-» – гетерозиготный аллель гена *SIMYB12* по изучаемому полиморфизму.

N o t e: “+” and “–” – presence/absence of polymorphism associated with impaired synthesis of chalcone in the skin of fruits, “+/-” – heterozygous allele of the *SIMYB12* gene for the studied polymorphism.

Таким образом, в результате апробации и оценки эффективности предлагаемых в литературе ДНК-маркеров нарушения синтеза халкона в кожице плодов томата на образцах используемой нами коллекции установлена наибольшая эффективность выявления рецессивного аллеля у регуляторного гена *SIMYB12* сочетанием маркеров MYB12-603del-aF1/603del-aR6 (Myb-603del aF1/R6) и MYB12-603del-aF1/603del-aR5 (Myb12 aF1/R5). В результате исследований подобраны условия для ПЦР-амплификации и разработан протокол ДНК-типирования делеции в промоторной области гена *SIMYB12*, являющейся эффективным маркером отсутствия флавоноида халкон-нарингенина в плодах томата. Данные праймеры использованы для создания путем гибридизации и маркер сопутствующего отбора из популяционного материала F₂ форм с различными комбинациями структурных генов пути биосинтеза каротиноидов и регуляторных генов, влияющих на накопление каротиноидов и флавоноидов.

Изучение особенностей накопления каротиноидов. Следующим этапом выполняемой работы было изучение особенностей накопления каротиноидов у форм томата в зависимости от сочетания аллелей структурного гена ликопин-β-циклазы (*CYCB*) и транскрипционного фактора *SIMYB12*. В ранее выполненных исследованиях были созданы образцы с различными сочетаниями структурных и регуляторных генов качества плодов, проанализировано содержание кароти-

ноидов и выявлены закономерности их накопления в зависимости от комбинации аллелей [3; 14]. В табл. 2 показаны результаты оценки каротиноидного состава плодов у созданных линий со структурными аллелями гена *CYCB* og^c , b , B и комплексом регуляторных аллелей: *rin* (уменьшение накопления каротиноидов), *gf-3* (замедленное разрушение хлорофилла), *hp2^{dg}* (увеличение накопления каротиноидов). Все используемые нами образцы имели доминантный аллель Y гена *SIMYB12* с нормальным синтезом флавоноида халкон-нарингенина в кожице плодов. В табл. 2 также представлены сорта и гибриды, линейный материал селекции ССАФ «Ильнична» – ФГБНУ ФНЦО, а также образец томата-черри Института генетики и цитологии НАН Беларуси – Малиновый коктейль с аналогичными аллелями гена *CYCB* (og^c , b), но отличающийся наличием рецессивного аллеля y гена *SIMYB12*, блокирующего синтез халкона в плодах. Представленные данные позволяют оценить влияние аллелей Y и y , напрямую не связанных с синтезом каротиноидов, а также сравнить его с влиянием ранее изученных аллелей. В табл. 2 представлены результаты анализа каротиноидного состава, сделанного методом тонкослойной хроматографии.

Т а б л и ц а 2. Содержание каротиноидов в плодах образцов томата с различным сочетанием аллелей качества (мг/100 г массы), 2017 г.

Table 2. Carotenoid content in tomato fruit samples with a different combination of fruit quality alleles (mg/100 g wet basis), 2017

Название образца Sample name	Генотип Genotype	Бета-каротин Beta-carotene	Ликопин Lycopene	Лютеин Lutein	Хлоро- филл Chlorophyll
<i>Красноплодные формы</i>					
LON _д	$og^c/og^c//Y/Y$	1,9	11,5	2,7	0
LOPN _д	$og^c/og^c//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y$	1,7	15,4	2,6	0
LOG	$og^c/og^c//gf3/gf3//Y/Y$	2,0	11,4	2,2	0
LOPR _м	$og^c/og^c//hp2^{dg}/hp2^{dg}/rin/rin//Y/Y$	0	0	0	2,1
Старт	$b/b//Y/Y$	1,9	4,8	0	0
ЛьР	$b/b//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y$	2,8	12,4	2,7	0
Черная груша	$b/b//gf-3/gf-3//y/y$	1,5	9,2	2,6	0
ЛьРГ	$b/b//hp2^{dg}/hp2^{dg}/gf3/gf3//Y/Y$	2,0	6,3	1,8	9,9
Луч	$B/B//Y/Y$	5,4	0,9	2,0	–
LBPN _д	$B/B//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y$	6,7	0	4,0	0
LBPR _д	$B/B//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y$	11,0	2,9	3,0	–
LBPR _м	$B/B//hp2^{dg}/hp2^{dg}/rin/rin//Y/Y$	1,0	–	1,1	–
ЛВGR _м	$B/B//gf-3/gf-3/rin/rin//Y/Y$	0	0	0	0,58
ЛВGR _д	$B/B//gf-3/gf-3//Y/Y$	2,0	–	3,5	0
<i>Розовоплодные формы</i>					
Малиновый коктейль	$b/b//y/y$	3,6	22,3	3,3	0
Спутник	$b/b//y/y$	2,4	21,8	4,5	0
Галактика	$b/b//y/y$	3,9	19,4	3,7	0
N 263	$b/b//y/y$	2,0	14,2	2,3	0
N33-1/16	$og^c/og^c//y/y$	2,0	14,2	2,3	0
N 34-1/16	$b/b//y/y$	2,0	19,6	2,2	0
Виктория F ₁	$b/b//y/y$	1,8	15,4	2,0	0

В целом анализ данных показал, что группа розовоплодных образцов с аллелями b/b (нормальное накопление ликопина и каротина) и y/y (отсутствие халкона в кожице плодов) характеризовалась высоким накоплением ликопина. Образец томата черри Малиновый коктейль имел наибольшее значение данного признака (22,3 мг/100 г). Данный образец был представлен для оценки в ГСИ как сорт с высоким накоплением каротиноидов. Сопоставление значений концентрации ликопина в плодах форм с аллелями $b/b//YY$ (Старт F₁) и $b/b//y/y$ (Виктория, Галактика, Спутник) показало, что у форм без накопления халкона концентрация ликопина выше в 3,2–4,5 раза соответственно. Анализ изменения концентрации ликопина под действием y аллеля сопоставим

с уровнем влияния на данный показатель таких регуляторных генов, как *hp2^{dg}* и *gf-3*. Так, увеличение концентрации ликопина у форм со структурным аллелем *b* (Старт F₁) при сочетании с аллелем *hp2^{dg}* (LbP) было в 2,6 раза, при сочетании с аллелем *gf-3* (Черная груша) – в 1,9 раза.

Сравнение данного показателя у форм с аллелями *og^c/og^c//Y/Y* (LON_д) и *og^c/og^c//y/y* (N33-1/16) показало увеличение содержания ликопина у форм без накопления халкона в 1,2 раза. Такое воздействие сопоставимо с влиянием аллеля *hp2^{dg}*. Так, в плодах форм с комбинациями аллелей *og^c/og^c//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y* (LOPN_д) и *B/B//hp2^{dg}/hp2^{dg}//Y/Y* (LBPN_д) концентрация ликопина была выше, чем у образцов с комбинациями аллелей *og^c/og^c//Y/Y* (LON_д) и *B/B//Y/Y* (Луч) в 1,3 и 1,2 раза соответственно. Меньшее воздействие регуляторных факторов на увеличение концентрации ликопина в плодах при сочетании с аллелем *og^c*, чем при сочетании с аллелем *b*, возможно, связано с тем, что сам аллель *og^c* обеспечивает высокое накопление данного каротиноида. Полученные результаты подтверждают воздействие рецессивного аллеля у гена *SIMYB12* на увеличение концентрации ликопина в плодах томата. Мы предполагаем, что такое воздействие может быть связано с тем, что как каротиноиды, так и флавоноиды являются вторичными метаболитами и блокирование синтеза одного из веществ может способствовать более активному синтезу других. Данные предположения планируется проверить в дальнейших исследованиях с использованием форм со структурными аллелями активного синтеза проликопина (*t*), β-каротина (*B*) и различными аллелями генов, регулирующих синтез флавоноидов халкона (*Y* и *y*) и антоциана (*Ant1* и *ant1*).

Заключение. Изучена эффективность выявления форм с отсутствием флавоноида халкон-нарингенина в розовоплодных и желтоплодных формах томата с помощью ДНК-маркеров к различным полиморфизмам гена *SIMYB12*. Подтверждена тесная связь наличия прозрачной кожицы плодов с делецией в промоторной области гена *SIMYB12*. Установлена наибольшая эффективность выявления рецессивного аллеля у регуляторного гена *SIMYB12*, приводящего к нарушению синтеза халкон-нарингенина и прозрачности кожицы, сочетанием маркеров MYB12-603del-aF1/603del-aR6 (Myb-603del aF1/R6) и MYB12-603del-aF1/603del-aR5 (Myb12 aF1/R5). Использование данных маркеров позволяет выделять формы с рецессивным аллелем *y*. Сочетание данного аллеля с аллелями гена ликопин-β-циклазы *beta* и *old gold crimson* позволяет отобрать розовые и малиновые формы соответственно. У образцов томата с желтой и оранжевой окраской плодов аллель *y* обеспечивает бледные оттенки основных окрасок, обусловленных генами биосинтеза каротиноидов (аллели генов каротиноидов – *yellow flesh*, *tangerin*, *Beta*). Выявлено наличие SNP T → C гена *SIMYB12* (позиция 71476848 хромосомы 1) у 80 % образцов с прозрачной кожицей плодов оцениваемой коллекции. Показано значительное влияние рецессивного аллеля у гена *SIMYB12* на увеличение концентрации ликопина в плодах томата. С использованием методов MAS по генам качества плодов, в том числе по гену *SIMYB12*, создан и включен в Государственный реестр сорт томата черри Малиновый коктейль с высоким накоплением ликопина.

Список использованных источников

1. Томат / А. В. Кильчевский [и др.] // Генетические основы селекции растений: в 4 т. – Минск, 2010. – Т. 2. – С. 422–508.
2. ДНК-типирование генов качества плодов и устойчивости к болезням томата. Методические рекомендации / А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2016. – 41 с.
3. Genetic bases of tomato marker-assisted selection in Belarus / O. G. Babak [et al.] // Eurobiotech J. – 2018. – Vol. 2, N 2. – P. 128–135. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2018-0017>
4. Biochemical and Molecular Analysis of Pink Tomatoes: Deregulated Expression of the Gene Encoding Transcription Factor *SIMYB12* Leads to Pink Tomato Fruit Color / A.-R. Ballester [et al.] // Plant Physiol. – 2010. – Vol. 152, N 1. – P. 71–84. <https://doi.org/10.1104/pp.109.147322>
5. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding / T. Lin [et al.] // Nat. Genet. – 2014. – Vol. 46, N 11. – P. 1220–1226. <https://doi.org/10.1038/ng.3117>
6. Sequence Variation in *SIMYB12* is Associated with Fruit Peel Color in Pink Tomato Cultivars / K. Veerappan [et al.] // Hortic. Environ. Biotechnol. – 2016. – Vol. 57, N 3. – P. 274–279. <https://doi.org/10.1007/s13580-016-0041-9>
7. New SNPs and InDel Variations in *SIMYB12* Associated with Regulation of Pink Color in Tomato / H. J. Jung [et al.] // Tropical Plant Biology. – 2017. – Vol. 10, N 1–2. – P. 126–133. <https://doi.org/10.1007/s12042-017-9191-x>
8. Single Nucleotide Polymorphisms linked to the *SIMYB12* Gene that Controls Fruit Peel Color in Domesticated Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) / B. Kim [et al.] // Kor. J. Hort. Sci. Technol. – 2015. – Vol. 33, N 4. – P. 566–574. <https://doi.org/10.7235/hort.2015.15032>

9. An alternative pathway to b-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of *Beta* and *old-gold* color mutations in tomato / G. Ronen [et al.] // PNAS. – 2000. – Vol. 97, N 20. – P. 11102–11107. <https://doi.org/10.1073/pnas.190177497>
10. A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato ripening-inhibitor (Rin) locus / J. Vrebalov [et al.] // Science. – 2002. – Vol. 296, N 5566. – P. 343–345. <https://doi.org/10.1126/science.1068181>
11. Transcriptional profiling of high pigment-2^{de} tomato mutant links early fruit plastid biogenesis with its overproduction of phytonutrients / I. Kolotilin [et al.] // Plant Physiol. – 2007. – Vol. 145, N 2. – P. 389–401. <https://doi.org/10.1104/pp.107.102962>
12. Amino acid substitutions in homologs of the Stay-Green protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper / C. S. Barry [et al.] // Plant Physiol. – 2008. – Vol. 147, N 1. – P. 179–187. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118430>
13. Количественная тонкослойная хроматография в оценке каротиноидного состава томата *Solanum lycopersicum* / Н. А. Голубкина [и др.] // Овощи России. – 2017. – № 5. – С. 96–99. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-96-99>
14. Генетические коллекции сельскохозяйственных культур. Томат (*Solanum lycopersicum* L.) и перец (*Capsicum annuum* L.) / А. В. Кильчевский [и др.] // Генетические ресурсы растений в Беларуси: мобилизация, сохранение, изучение и использование. – Минск, 2019. – С. 167–175.

References

1. Kilchevsky A. V., Khotyleva L. V., Dobrodkin M. M., Skorina V. V., Kogotko L. G., Nikonovich T. V., Babak O. G., Pugacheva I. G., Leschina N. Yu., Ivantsova E. Yu., Tarutina L. A., Schur A. V., Kruk A. V., Malyshev S. V., Mishin L. A., Bazhanov D. P., Nekrashevich N. A., Bazhanova A. A., Lemesh V. A., Grushetskaya Z. E. Tomato. *Genetic basis of plant breeding*. Vol. 2. Minsk, 2010, pp. 422–508 (in Russian).
2. Kilchevsky A. V., Babak O. G., Malyshev S. V., Adzhieva V. F., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K., Kondratyuk A. V. *DNA typing of genes for fruit quality and resistance to tomato diseases. Guidelines*. Minsk, 2016. 41 p. (in Russian).
3. Babak O. G., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K., Malyshev S. V., Kilchevsky A. V. Genetic bases of tomato marker-assisted selection in Belarus. *Eurobiotech Journal*, 2018, vol. 2, no. 2, pp. 128–135. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2018-0017>
4. Ballester A.-R., Molthoff J., de Vos R., Hekkert B., Orzaez D., Fernández-Moreno J., Tripodi P., Grandillo S., Martin C., Heldens J., Ykema M., Granell A., Bovy A. Biochemical and Molecular Analysis of Pink Tomatoes: Deregulated Expression of the Gene Encoding Transcription Factor *SIMYB12* Leads to Pink Tomato Fruit Color. *Plant Physiology*, 2010, vol. 152, no. 1, pp. 71–84. <https://doi.org/10.1104/pp.109.147322>
5. Lin T., Zhu G., Zhang J., Xu X., Yu Q., Zheng Z., Zhang Z., Lun Y., Li S., Wang X., Huang Z., Li J., Zhang C., Wang T., Zhang Y., Wang A., Zhang Y., Lin K., Li C., Xiong G., Xue Y., Mazzucato A., Causse M., Fei Z., Giovannoni J. J., Chetelat R. T., Zamir D., Städler T., Li J., Ye Z., Du Y., Huang S. Genomic analyses provide insights into the history of tomato breeding. *Nature Genetics*, 2014, vol. 46, no. 11, pp. 1220–1226. <https://doi.org/10.1038/ng.3117>
6. Veerappan K., Jung H. J., Hwang I., Kho K. H., Chung M. Y., Nou I. S. Sequence Variation in *SIMYB12* is Associated with Fruit Peel Color in Pink Tomato Cultivars. *Horticulture, Environment and Biotechnology*, 2016, vol. 57, no. 3, pp. 274–279. <https://doi.org/10.1007/s13580-016-0041-9>
7. Jung H. J., Veerappan K., Hwang I., Goswami G., Chung M. Y., Nou I. S. New SNPs and InDel Variations in *SIMYB12* Associated with Regulation of Pink Color in Tomato. *Tropical Plant Biology*, 2017, vol. 10, no. 2–3, pp. 126–133. <https://doi.org/10.1007/s12042-017-9191-x>
8. Kim B., Kim N., Kang J., Choi Y., Sim S.-C., Min S. R., Park Y. Single Nucleotide Polymorphisms linked to the *SIMYB12* Gene that Controls Fruit Peel Color in Domesticated Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *Korean Journal of Horticultural Sciences Technology*, 2015, vol. 33, no. 4, pp. 566–574. <https://doi.org/10.7235/hort.2015.15032>
9. Ronen G., Carmel-Goren L., Zamir D., Hirschberg J. An alternative pathway to b-carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of *Beta* and *old-gold* color mutations in tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, vol. 97, no. 20, pp. 11102–11107. <https://doi.org/10.1073/pnas.190177497>
10. Vrebalov J., Ruzinsky D., Padmanabhan V., White R., Medrano D., Drake R., Schuch W., Giovannoni J. A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato ripening-inhibitor (Rin) locus. *Science*, 2002, vol. 296, no. 5566, pp. 343–345. <https://doi.org/10.1126/science.1068181>
11. Kolotilin I., Koltai H., Tadmor Y., Bar-Or C., Reuveni M., Meir A., Nahon S., Shlomo H., Chen L., Levin I. Transcriptional profiling of high pigment-2^{de} tomato mutant links early fruit plastid biogenesis with its overproduction of phytonutrients. *Plant Physiology*, 2007, vol. 145, no. 2, pp. 389–401. <https://doi.org/10.1104/pp.107.102962>
12. Barry C. S., McQuinn R. P., Chung M.-Y., Besuden A., Giovannoni J. J. Amino acid substitutions in homologs of the Stay-Green protein are responsible for the green-flesh and chlorophyll retainer mutations of tomato and pepper. *Plant Physiology*, 2008, vol. 147, no. 1, pp. 179–187. <https://doi.org/10.1104/pp.108.118430>
13. Golubkina N. A., Molchanova A. V., Tareeva M. M., Babak O. G., Nekrashevich N. A., Kondratyeva I. Yu. Quantitative thin layer chromatography for evaluation of carotenoid composition of tomatoes *Solanum lycopersicum*. *Vegetable crops of Russia*, 2017, no. 5, pp. 96–99 (in Russian). <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-96-99>
14. Kilchevsky A. V., Babak O. G., Adzhieva V. F., Nikitinskaya T. V., Nekrashevich N. A., Yatsevich K. K. Genetic collections of crops. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Geneticheskie resursy rastenii v Belarusi: mobilizatsiya, sokhranenie, izuchenie i ispol'zovanie* [Plant genetic resources in Belarus: mobilization, conservation, study and use]. Minsk, 2019, pp. 167–175 (in Russian).

Информация об авторах

Бабак Ольга Геннадьевна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: o.babak@igc.by.

Игнатова Светлана Ильинична – д-р с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Федеральный научный центр овощеводства (дер. Веряя, стр. 500, 140153, Раменский р-н, Московская область, Российская Федерация). E-mail: svil@bk.ru.

Голубкина Надежда Александровна – д-р с.-х. наук, гл. науч. сотрудник. Федеральный научный центр овощеводства (ул. Селекционная, д. 14, 143072, поселок ВНИИССОК, Одинцовский район, Московская обл., Российская Федерация). E-mail: segolubkina45@gmail.com.

Некрасевич Наталья Александровна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.nekrashevich@igc.by.

Анисимова Наталья Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: n.anisimova@igc.by.

Никитинская Татьяна Владимировна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: nikitinskaja@yandex.ru.

Яцевич Констанция Константиновна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Кильчевский Александр Владимирович – академик, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель лаборатории. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.

Information about the authors

Babak Olga G. – Ph. D. (Biology), Assistant Professor, Leading researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: o.babak@igc.by.

Ignatova Svetlana I. – D. Sc. (Agrarian), Professor, Chief researcher. Federal State Scientific Center for Vegetable Crops (500, Vereya village, 140153, Ramensky district, Moscow region, Russian Federation). E-mail: svil@bk.ru.

Golubkina Nadezhda A. – D. Sc. (Agrarian), Chief researcher. Federal State Scientific Center for Vegetable Crops (14, Selektionnaya Str., 143072, VNISSOK, Odintsovo district, Moscow region, Russian Federation). E-mail: segolubkina45@gmail.com.

Nekrashevich Nataliya A. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.nekrashevich@igc.by.

Anisimova Nataliya Vladimirovna – Ph. D. (Biology), Senior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: n.anisimova@igc.by.

Nikitinskaya Tatiana V. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: nikitinskaja@yandex.ru.

Yatsevich Konstanciya K. – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Kilchevsky Alexander V. – Academician, D. Sc. (Biology), Professor, Scientific Head of the Laboratory. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Science of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kilchev@presidium.bas-net.by.