

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Вариабельность генома отечественных сортов томата: данные AFLP-анализа

А.В. Кулакова¹✉, Е.А. Дьяченко¹, А.В. Щенникова¹, О.Н. Пышная², Е.А. Джос^{1, 2}

¹ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, Россия

² Федеральный научный центр овощеводства, пос. ВНИИССОК, Московская область, Россия

✉ kulakova_97@mail.ru

Аннотация. Томат *Solanum lycopersicum* L. является одной из основных овощных культур, образцы и сорта которой характеризуются низким уровнем геномного полиморфизма. В интрогрессивной селекции томата используют родственные дикорастущие виды *Solanum* для улучшения сортов по признакам устойчивости к стрессовым факторам и качества плодов. Целью работы была оценка variability генома 59 сортов и перспективных селекционных линий *S. lycopersicum* и 11 дикорастущих видов томата с помощью метода AFLP. По данным AFLP-анализа было выбрано четыре комбинации праймеров E32/M59, E32/M57, E38/M57 и E41/M59, которые отличались наиболее высокими показателями PIC (polymorphism information content). В процессе маркирования коллекции из 59 сортов/линий *S. lycopersicum* и 11 дикорастущих образцов томата отобранными праймерами выявлен 391 фрагмент размером от 80 до 450 п. н., из которых 114 фрагментов оказались полиморфными и 25 – уникальными. Анализ спектров амплификации выделил дикорастущие образцы томата в отдельные клады. Сестринские клады включали сорта селекции Федерального научного центра овощеводства, устойчивые к засухе и/или холоду и, частично, к фитофторозу, альтернариозу, септориозу, вирусу табачной мозаики и вершинной гнили плода, а также не охарактеризованные по данным признакам образцы томата, что позволяет предположить наличие у них устойчивости к стрессовым факторам. У сортовых образцов отдаленных клад присутствует кластеризация по признакам устойчивости к вертициллезу, кладоспориозу, фузариозу, вирусу табачной мозаики, серой гнили и вершинной гнили плода. Показано объединение образцов согласно их происхождению от организации-оригинатора. Продемонстрирована перспективность праймерных комбинаций E32/M59, E32/M57, E38/M57 и E41/M59 для генотипирования сортов томата с целью отбора доноров устойчивости к различным стрессовым факторам. Выявленные в настоящей работе кладоспецифичные фрагменты могут стать основой для разработки AFLP-маркеров для признаков устойчивости к стрессовым факторам.
Ключевые слова: *Solanum lycopersicum*; сорта томата; геномный полиморфизм, AFLP-кластеризация сортов по признакам.

Для цитирования: Кулакова А.В., Дьяченко Е.А., Щенникова А.В., Пышная О.Н., Джос Е.А. Variability генома отечественных сортов томата: данные AFLP-анализа. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(7):652-661. DOI 10.18699/VJGB-22-80

Genome variability of domestic tomato varieties: data from AFLP analysis

A.V. Kulakova¹✉, E.A. Dyachenko¹, A.V. Shchennikova¹, O.N. Pyshnaya², E.A. Dzhos^{1, 2}

¹ Institute of Bioengineering, Research Center of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² Federal Scientific Vegetable Center, VNISSOK, Moscow region, Russia

✉ kulakova_97@mail.ru

Abstract. Tomato *Solanum lycopersicum* L. is one of the main vegetable crops, accessions and cultivars of which are characterized by a low level of genomic polymorphism. Introgressive tomato breeding uses related wild *Solanum* species to improve cultivars for stress tolerance and fruit quality traits. The aim of this work was to evaluate the genome variability of 59 cultivars and perspective breeding lines of *S. lycopersicum* and 11 wild tomato species using the AFLP method. According to the AFLP analysis, four combinations of primers E32/M59, E32/M57, E38/M57, and E41/M59, which had the highest PIC (polymorphism information content) values, were selected. In the process of genotyping a collection of 59 cultivars/lines of *S. lycopersicum* and 11 wild tomato accessions, the selected primers revealed 391 fragments ranging in size from 80 to 450 bp, of which 114 fragments turned out to be polymorphic and 25 were unique. Analysis of the amplification spectra placed wild tomato accessions into separate clades. Sister clades included cultivars of FSCV breeding resistant to drought and/or cold and, in part, to late blight, *Alternaria*, *Septoria*, tobacco mosaic virus and blossom end rot, as well as tomato accessions not characterized according to these traits, which suggests that they have resistance to stress factors. In accessions of distant clades, there was clustering on the basis of resistance to *Verticillium*, cladosporiosis, *Fusarium*, tobacco mosaic virus, gray rot, and blossom end rot. The combination of ac-

cessions according to their origin from the originating organization was shown. The primer combinations E32/M59, E32/M57, E38/M57 and E41/M59 were shown to be perspective for genotyping tomato cultivars to select donors of resistance to various stress factors. The clade-specific fragments identified in this work can become the basis for the development of AFLP markers for traits of resistance to stress factors.

Key words: *Solanum lycopersicum*; tomato cultivars; genomic polymorphism; AFLP clustering of cultivars by traits.

For citation: Kulakova A.V., Dyachenko E.A., Shchennikova A.V., Pyshnaya O.N., Dzhos E.A. Genome variability of domestic tomato varieties: data from AFLP analysis. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(7):652-661. DOI 10.18699/VJGB-22-80

Введение

Изучение генетического разнообразия с учетом родословных сортов сельскохозяйственных растений и ассоциаций с важными признаками является одной из основ современной селекции. Различные методы молекулярного анализа генома используются при подборе родительских генотипов, а также при выявлении уровня вариабельности внутри сорта и между сортами (Nurmansyah et al., 2020; Sheeja et al., 2021). ДНК-генотипированию подвергается весь геном растений или его частные области (семейства генов, конкретные локусы, отдельные гены). Данные полиморфизма используются, к примеру, для разработки молекулярных ДНК-маркеров, сцепленных с важными признаками. Маркеры применяются для поиска доноров соответствующих генотипов и для паспортизации сортов и линий (Semagn et al., 2006; Swiecicka et al., 2009).

Один из часто применяемых методов анализа вариабельности генома растений – метод AFLP (amplified fragment length polymorphism), который основан на выявлении и сравнении спектра уникальных и умеренно повторяющихся последовательностей генома, но не требует определения самих последовательностей (Vos et al., 1995; Karp et al., 1997; Despres et al., 2003). Для этого проводится селективная ПЦР-амплификация рестрикционных фрагментов, полученных в результате полного гидролиза геномной ДНК (Vos et al., 1995). Метод AFLP применим ко всем видам, хорошо воспроизводим и высокоэффективен для определения генетических расстояний и филогенетических связей в таксономии (Kardolus et al., 1998; Mba, Tohme, 2005; Arif et al., 2010). С его помощью успешно изучают дикие и исчезающие виды растений (Zawko et al., 2001; Ronikier, 2002; van Ee et al., 2006; Manoko et al., 2007; Elameen et al., 2008; Li et al., 2008; Sánchez-Teyer et al., 2009; Tatikonda et al., 2009). Кроме того, AFLP популярен в современной селекции растений для определения родословных, вариабельности, гомогенности и степени интрогрессии и гибридности сортов, а также для поиска молекулярных маркеров, ассоциированных с хозяйственно ценными признаками (Mba, Tohme, 2005; Swiecicka et al., 2009; Arif et al., 2010). Такие исследования проведены, например, на пшенице (Hassan et al., 2018), ячмене (El-Esawi et al., 2018a), горохе (Дьяченко и др., 2014; El-Esawi et al., 2018b), перце (Кочиева, Рыжова, 2009) и картофеле (McGregor et al., 2002; Jacobs et al., 2008; Vamberg, del Rio, 2014; Bryan et al., 2017; Дьяченко и др., 2020).

Метод AFLP применялся также для генотипирования культуры томата (*Solanum lycopersicum* L.). Так, с его помощью была построена внутривидовая карта генома томата (Saliba-Colombani et al., 2000), изучен транскрипционный ответ томата на нематодную инфекцию (Świecicka

et al., 2017) и идентифицированы ДНК-маркеры, сцепленные с устойчивостью к бактериальному увяданию томата (Miao et al., 2009) и кладоспориозу (Thomas et al., 1995). Использование AFLP для сравнения ответа термостойких и термочувствительных генотипов томата на умеренные условия теплового стресса выявило ряд дифференциально экспрессирующихся конститутивных генов, предположительно определяющих термостойкость и различия в адаптации генотипов к повышенным температурам (Bita et al., 2011).

Филогенетика и геогеография диких родственников сельскохозяйственных культур являются эффективными подходами к пониманию закономерностей их эволюции и раскрытию их потенциала для улучшения сельскохозяйственных культур. AFLP-маркирование в сопоставлении с географическими и климатическими показателями способствовало исследованию пространственной генетики диких видов томата *S. lycopersicum*, *S. pimpinellifolium* (Nakazato, Housworth, 2011) и *S. peruvianum* (Nakazato et al., 2012). Было продемонстрировано, что эволюционные модели *S. lycopersicum* и *S. pimpinellifolium*, включая демографическую историю, модели расселения, межвидовую дивергенцию и гибридизацию, тесно связаны со сложными географическими и экологическими особенностями Анд (Nakazato, Housworth, 2011). Исследование с помощью AFLP 19 природных популяций *S. peruvianum* выявило умеренную степень популяционной дифференциации, вероятно, отражающую частичную географическую изоляцию между видами томата (Nakazato et al., 2012).

Помимо решения таксономических и филогенетических проблем, метод AFLP применяют для определения вариабельности сортов томата. Различные системы ДНК-маркирования показывали низкую эффективность при изучении генетического разнообразия сортов томата, имеющих ограниченную генетическую изменчивость. Использование AFLP в сочетании с SSR-маркерами для характеристики 48 близкородственных сортов томата испанской селекции позволило получить уникальный фингерпринтинг для каждого анализируемого образца (García-Martínez et al., 2006).

Культивируемые сорта и линии томата относятся к виду *S. lycopersicum*. В сравнении с дикорастущими родственными видами (секция *Lycopersicon* рода *Solanum*) (Peralta et al., 2008) их геномы значительно менее полиморфны (в 20 раз и более) (The 100 Tomato Genome Sequencing Consortium et al., 2014). В геноме дикорастущих видов картированы сотни генов и локусов количественных признаков, сцепленных с устойчивостью, урожайностью, характеристиками цветков и плодов и архитектурой растений (Foolad, 2007). Благодаря относительной легкости

скрещивания с *S. lycopersicum*, дикорастущие виды активно используются в интрогрессивной селекции томата для улучшения хозяйственно ценных признаков, ассоциированных с устойчивостью к стрессовым факторам, урожайностью и качеством (Hajjar, Hodgkin, 2007; Labate, Robertson, 2012). К примеру, источниками разной степени устойчивости к бактериальному увяданию служат *L. pimpinellifolium* (= *S. pimpinellifolium*) PI127805A, *L. esculentum* var. *cerasiforme* (= *S. lycopersicum* var. *cerasiforme*) CRA66, *L. pimpinellifolium* PI129080 и *L. esculentum* AS52 (Chellemi et al., 1994). У сортов с фиолетовыми плодами признак биосинтеза антоцианов в плоде получен путем интрогрессии из генома диких видов *S. chilense* и *S. cheesmaniae* (Povero et al., 2011; Maligeppagol et al., 2013).

Таким образом, низкий уровень геномного полиморфизма сортов томата сочетается с интрогрессивными генами/локусами, ассоциированными с хозяйственно ценными признаками. Поэтому методы мультилокусного картирования генома предположительно могут разделять сорта согласно полезным признакам.

Несмотря на важность сортовой паспортизации и оценки межсортовой вариабельности генома, в России исследований по маркированию генотипов сортов томата известно немного. В основном это работы по генотипированию с помощью уже известных маркеров (Щербань, 2019). К примеру, проведен скрининг коллекции сортов и гибридов томата Мичуринского ГАУ с использованием молекулярного маркера P7 для идентификации доноров устойчивости к кладоспориозу (Шамшин и др., 2019).

В данной работе проведена оценка геномной вариабельности сортов и линий томата *S. lycopersicum* отечественной и зарубежной селекции из коллекции Федерального научного центра овощеводства (ФНЦО) в сравнении с дикими образцами видов томата методом AFLP.

Материалы и методы

Для анализа были отобраны 59 сортов и перспективных селекционных линий томата *S. lycopersicum* отечественной и зарубежной селекции из коллекции ФНЦО (табл. 1). В качестве внешней группы использованы 11 дикорастущих видов томата (см. табл. 1). Тридцать четыре сорта выборки (~58 %) входят в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» РФ на 2022 г. (<https://reestr.gossortrf.ru/>). Семена образцов проращивали в стандартных условиях теплицы (23 °C/25 °C, 16 ч/8 ч – день/ночь). Геномную ДНК выделяли из свежесобраных 5–6-дневных проростков с помощью СТАВ-метода (Puchooa, 2004).

Данные по засухо- и холодоустойчивости и восприимчивости к болезням (фитофтороз, фузариоз, вертициллез, кладоспориоз, альтернариоз, септориоз, вирус табачной мозаики, серая гниль, вершинная гниль плода) частично взяты из Государственного реестра селекционных достижений (<http://reestr.gossortrf.ru/>), а также любезно предоставлены оригинаторами сортов и к.с.-х.н. И.А. Енгальцевой.

AFLP-анализ проводили по стандартной методике, гидролизуя 350 нг геномной ДНК каждого образца рестриктазами *EcoRI* и *MseI* с последующим лигированием с *EcoRI*- и *MseI*-адаптерами (Vos et al., 1995). Селективную

амплификацию осуществляли в два этапа: 1) преамплификация (денатурация – 94 °C, 30 с, отжиг праймеров – 56 °C, 30 с, синтез – 7 °C, 1 мин, 24 цикла) с адаптерными праймерами *EcoRI*+1 и *MseI*+1 (Vos et al., 1995) с одним селективным нуклеотидом (A) на 3'-конце; 2) амплификация с праймерами *EcoRI*+3 и *MseI*+3 с тремя селективными нуклеотидами на 3'-конце. Результаты визуализировали в денатурирующем 6 % полиакриламидном геле с использованием геле-анализатора LI-COR 4300 (LI-COR operator manual; LI-COR, США). Эксперимент выполняли в одном повторе для каждой комбинации праймеров. Показатель информативности (polymorphic information content, PIC) для каждой комбинации праймеров вычисляли согласно (Botstein et al., 1980; Krishnamurthy et al., 2015).

Молекулярные панели AFLP-фрагментов документировали в виде бинарных матриц (программа Excel). На основании построенных спектров и матриц идентифицировали сортоспецифичные ДНК-маркеры, рассчитывали коэффициенты попарного генетического сходства/различия между образцами (GS) и значения генетических расстояний (GD = 1 – GS). Далее с помощью кластерного анализа (метод ближайшего соседа, Neighbor Joining; метод главных координат, PCA) определяли группы генетически сходных образцов (пакет программ PAST) (Hammer et al., 2001). Геномную структуру популяции исследуемых образцов анализировали в программе Structure v. 2.3.4, которая позволяет выявлять общие генетические блоки и их соотношение в каждом образце (Pritchard et al., 2000; Hubisz et al., 2009).

Результаты

Поскольку до 80 % стандартного AFLP-спектра могут служить маркерами для выявления генетических полиморфизмов, а эффективность AFLP зависит от праймерных комбинаций (Vos et al., 1995), для проведения мультилокусного AFLP-анализа образцов томата были подобраны и протестированы комбинации праймер/фермент. На выборке из пяти образцов томата протестированы семь комбинаций праймеров *EcoRI*+3/*MseI*+3, различающихся составом селективных нуклеотидов на 3'-конце: E32/M59 (E-AAC/M-CTA); E32/M57 (E-AAC/M-CGG); E38/M57 (E-ACT/M-CGG); E41/M59 (E-AGG/M-CTA); E32/M61 (E-AAC/M-CTG); E38/M47 (E-ACT/M-CAA); E38/M59 (E-ACT/M-CTA). Показано, что использование комбинаций E32/M59, E32/M57, E38/M57 и E41/M59 дает полиморфный, четко дифференцированный спектр с оптимальным числом фрагментов.

Четыре отобранные комбинации праймеров были использованы для маркирования 59 сортов/линий *S. lycopersicum* и 11 дикорастущих образцов томата. В результате детектирован 391 фрагмент размером 80–450 п.н., из них 114 (29.2 %) фрагментов оказались полиморфными (табл. 2). Наиболее эффективной была комбинация праймеров E41/M59: вариабельными оказались 47 из 67 полученных фрагментов. При этом комбинации E32/M59 соответствовало наибольшее число уникальных для отдельных сортов фрагментов (11 из 25 найденных) (см. табл. 2). Для комбинаций E32/M61, E38/M47 и E38/M59 (количество полученных фрагментов – 31, 24 и 41 соответственно) полиморфных и уникальных фрагментов не

Таблица 1. Образцы томата, использованные для AFLP-анализа, и их устойчивость к различным стрессам

Образец (вид, сорт или линия; каталожный номер TGRC (LA), ВИР (к) или ГСР*)	Холод/ засуха	Фитофтороз/ фузариоз	Вершинная гниль плода/ серая гниль	Вертициллез/ кладоспориоз	Альтернариоз/ септориоз/ ВТМ
¹ <i>S. peruvianum</i> LA1278; ² <i>S. cheesmaniae</i> LA0421; ³ <i>S. galapagense</i> LA1044; ⁴ <i>S. pimpinellifolium</i> var. <i>racemigerum</i> LA2348; ⁵ <i>S. pimpinellifolium</i> LA1578; ⁶ <i>S. pimpinellifolium</i> к-1018	У / У	н / н	н / н	н / н	н / н / н
⁷ <i>S. lycopersicum</i> LA1673; ⁸ <i>S. lycopersicum</i> var. <i>succenturiatum</i> к-732; ⁹ <i>S. lycopersicum</i> var. <i>humboldtii</i> к-2912; ¹⁰ <i>S. lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i> к-342; ¹¹ <i>S. lycopersicum</i> var. <i>pyriforme</i> к-2911	В / В	н / н	н / н	н / н	н / н / н
¹² Осенняя рапсодия 8153507 [#]	У / У	В / н	ОУ / н	н / н	н / ОУ / ОУ
¹³ Магнат 9154078 [#] ; ¹⁴ Чаровница 9553320 [#] ; ¹⁸ Черномор 9553287 [#] ; ¹⁹ Радужная вдова 9154081 [#] ; ²⁴ Перст 9608141 [#]	У / У	ОУ / н	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / ОУ
¹⁵ Долгоносик 8456311 [#]	У / У	ОУ / н	ОУ / н	ОУ / н	ОУ / ОУ / ОУ
¹⁶ Реванш 9705233 [#] ; ²³ Монах 9154082 [#] ; ²⁸ Гурман 9900616 [#] ; ²⁹ Штамбовый Алпатьева 905а б/н [#]	У / У	В / н	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / ОУ
¹⁷ Юнона 9359147 [#]	У / У	ОУ / ОУ	В / н	ОУ / н	ОУ / ОУ / ОУ
²⁰ Гея 9608133 [#]	У / У	ОУ / н	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / В
²¹ Талисман 9705235 [#]	У / У	ОУ / н	ОУ / н	н / н	В / В / В
²² Росинка 9359149 [#]	У / У	ОУ / У	ОУ / н	У / н	ОУ / ОУ / ОУ
²⁵ Арго 8901902 [#]	У / В	В / н	В / н	н / н	ОУ / ОУ / В
²⁶ Грунтовый Грибовский 4500237 [#] ; ³¹ Отрадный 8006741 [#]	У / У	В / н	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / В
²⁷ Камея 9900640 [#]	У / У	У / н	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / ОУ
³⁰ Дубрава 9401288 [#]	У / У	СУ / СУ	ОУ / н	н / н	ОУ / ОУ / В
³² Бычье сердце 9810228 ^{##}	В / В	В / н	В / н	н / н	ОУ / ОУ / В
³³ Хохлома 9609982 ^{###}	В / В	ОУ / ОУ	В / н	н / н	н / н / н
³⁴ Розовый бутон 8355731 ^{####}	В / В	В / н	В / н	н / н	н / н / н
³⁵ Медовая капля 8262258 ^{####}	н / н	ОУ / н	ОУ / ОУ	н / В	н / н / ОУ
³⁶ Алтайский оранжевый 9463931 ^{&}	У / У	н / н	ОУ / ОУ	н / ОУ	н / н / н
³⁷ Бокари 8262335 [#]	У / У	н / н	ОУ / В	н / ОУ	н / н / н
³⁸ Розовый наш б/н [#]	У / У	н / н	ОУ / В	н / В	н / н / н
³⁹ Содружество 8456314 [#]	У / У	ОУ / н	ОУ / В	н / н	ОУ / ОУ / ОУ
⁴⁰ Органза 9359003 ^{&&} ; ⁵¹ Л-270-20 (RIN/rin) б/н [#]	У / У	н / ОУ	ОУ / В	н / ОУ	н / н / ОУ
⁴¹ Корнеевский 8262334 [#]	У / У	н / н	ОУ / В	н / В	н / н / ОУ
⁴² Малиновый силач 8653837 ^{&&&} ; ⁴³ Гармошка 8556947 ^{&&&} ; ⁴⁴ Копилка желтая б/н [#]	У / У	н / ОУ	В / В	н / В	н / н / ОУ
⁴⁵ ЛМ-298-19 б/н [#]	У / У	н / ОУ	н / ОУ	ОУ / ОУ	н / н / ОУ
⁴⁶ ЛП-296-19 б/н [#] ; ⁴⁷ Г-67-19 F ₁ б/н [#] ; ⁴⁸ Г-68-19 F ₁ б/н [#] ; ⁴⁹ Г-69-19 F ₁ б/н [#]	У / У	н / ОУ	н / В	ОУ / ОУ	н / н / ОУ
⁵⁰ Викинг 9253767 [#]	У / У	В / н	ОУ / н	н / н	ОУ / н / н
⁵² Черри украинские б/н [#]	У / У	н / ОУ	ОУ / ОУ	н / ОУ	н / н / ОУ
⁵³ Черри желто-оранжевые б/н [#] ; ⁵⁴ Red Cherry б/н [#] ; ⁵⁵ Black Cherry LA4451	У / У	н / ОУ	ОУ / ОУ	ОУ / ОУ	н / н / н
⁵⁶ Cherry Rose б/н ^{####}	У / У	н / ОУ	ОУ / В	н / ОУ	н / н / н
⁵⁷ Indigo Rose б/н ^{####}	У / У	н / ОУ	ОУ / ОУ	н / ОУ	н / н / н
⁵⁸ Троя ^{####}	ОУ / ОУ	В / В	В / ОУ	В / ОУ	н / н / н
⁵⁹ ОР-ЕФ-1-6 б/н ^{####}	У / У	н / н	ОУ / н	н / н	н / н / н
⁶⁰ Земба 8262336 [#]	У / У	н / ОУ	ОУ / ОУ	н / ОУ	В / н / ОУ

Окончание табл. 1

Образец (вид, сорт или линия; каталожный номер TGRC (LA), ВИР (к) или ГСР*)	Холод/ засуха	Фитофтороз/ фузариоз	Вершинная гниль плода/ серая гниль	Вертициллез/ кладоспориоз	Альтернариоз/ септориоз/ BTM
⁶¹ ДеБарао Оранжевый 9803327#####	У / У	СУ / н	В / В	н / В	ОУ / н / ОУ
⁶² Л-271-20 б/н#	н / н	н / н	ОУ / ОУ	н / ОУ	ОУ / н / ОУ
⁶³ MoneyMaker LA2706	н / н	ОУ / н	ОУ / ОУ	н / ОУ	н / н / ОУ
⁶⁴ A11round LA2463	н / н	н / н	ОУ / н	н / ОУ	н / н / ОУ
⁶⁵ Mazero-6111 F ₂ б/н####	н / н	н / н	ОУ / ОУ	н / ОУ	н / н / н
⁶⁶ White Beauty LA2464A	н / н	н / н	ОУ / н	н / ОУ	н / н / н
⁶⁷ Heinz 1706-BG LA4345	У / У	н / н	ОУ / н	н / н	ОУ / н / н
⁶⁸ Блэк-Джек 8457464####, ⁶⁹ Paul Robeson LA4450; ⁷⁰ Christmas Blueberry б/н#	н / н	н / ОУ	ОУ / ОУ	н / ОУ	ОУ / н / н

Примечание. Сокращения: б/н – без номера; н – нет данных; У – устойчивый (<0.5 балла), ОУ – относительно устойчивый (0.5–1.0), СУ – среднеустойчивый (1.1–2.0); В – восприимчивый (>2.0). Возбудители заболеваний: фитофтороз (*Phytophthora infestans* de Bary A); фузариоз (*Fusarium oxysporum* (Schlecht.) f. sp. *lycopersici* (Sacc.)); вертициллез (*Verticillium albo-atrum* и *V. dahliae*); кладоспориоз (*Cladosporium fulvum* Cooke); серая гниль (*Botrytis cinerea* Pers); альтернариоз (*Alternaria solani* Sorauer); септориоз (*Septoria lycopersici* Speg); BTM – вирус табачной мозаики.

* По данным ГСР (Государственный реестр селекционных достижений; <http://reestr.gossortrf.ru/>), TGRC (Tomato Genetic Resource Center, <https://tgrc.ucdavis.edu/>) или ВИР (Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова).

¹⁻⁷⁰ Нумерация образцов (использована на рис. 1–3).

ФНЦО; ## ООО «Агрофирма Поиск»; ### ООО «Научно-исследовательский институт селекции овощных культур» ООО «Агрофирма ГАВРИШ»; #### ООО «Селекционная фирма ГАВРИШ»; ##### ООО «Селекционно-семеноводческая фирма «Гисок»; & ООО Агрофирма «Деметра-Сибирь»; && MONSANTO HOLLAND B. V.; &&& ООО «Агрофирма Аэлита»; &&&& ООО «Премиум сидс».

Таблица 2. Результаты AFLP-анализа образцов видов, сортов, гибридов и линий томата

Комбинация праймеров	PIC	Количество фрагментов		
		общее	полиморфных, шт. (%)	уникальных
E32/M59	0.481	109	20 (18.0)	11
E32/M57	0.367	142	16 (11.2)	9
E38/M57	0.511	73	31 (42.5)	2
E41/M59	0.658	67	47 (70.1)	3
Всего	–	391	114 (35.5)	25

выявлено. Значение PIC варьировало от 0.367 (E32/M57) до 0.658 (E41/M59) (см. табл. 2) со средним значением 0.504, что указывает на возможность выявления большого количества полиморфизмов при использовании пары праймеров E41/M59.

По результатам AFLP-анализа была построена дендрограмма, четко разделившая образцы томата на кластеры I и II (рис. 1).

Дикорастущие образцы томата объединились в две клады кластера I: образцы с 1-го по 7-й (включая представителей дикорастущих видов томата и дикорастущий образец *S. lycopersicum*) обособились в кладу А; образцы 8–11, включающие дикорастущие образцы культурного вида (*S. lycopersicum* var. *succenturiatum*, var. *humboldtii*, var. *cerasiforme* и var. *pyriforme*) попали в кладу С. Клада С является сестринской по отношению к кладе В, состоящей из семи сортов *S. lycopersicum* (образцы 12–15, 17, 18 и 29; см. табл. 1, рис. 1). Клада D (промежуточное положение между А и В+С) объединила 14 сортов/линий томата. Две клады кластера II, в свою очередь, разделились на две подклады каждая (см. рис. 1).

На графике, построенном методом главных компонент, анализируемые сорта формируют три диффузных пула генотипов, где, как и на дендрограмме, выделяется группа дикорастущих образцов и сорта/линии томата кластеризуются сходным образом (рис. 2). Присутствует четкое разделение между кластерами I и II (согласно дендрограмме). Дикый образец 11 (*S. lycopersicum* var. *pyriforme*) – самый близкий по отношению к сортам/линиям подклады В.

Представлялось интересным проанализировать возможную взаимосвязь между кластеризацией сортов и образцов, полученной по данным AFLP, и устойчивостью к различным биотическим и абиотическим стрессам.

Сорта/линии томата, вошедшие в кластер I (клады В, D), являются результатом селекционных работ ФНЦО (кроме образца 34). Все они отличаются устойчивостью к холоду и/или засухе, тогда как образец 34 восприимчив. Похожая ситуация наблюдается в случае устойчивости к вершинной гнили, септориозу и альтернариозу. Устойчивостью к вирусу табачной мозаики обладают все образцы клады В, а также половина образцов клады D (другая половина восприимчива). Шесть образцов кла-

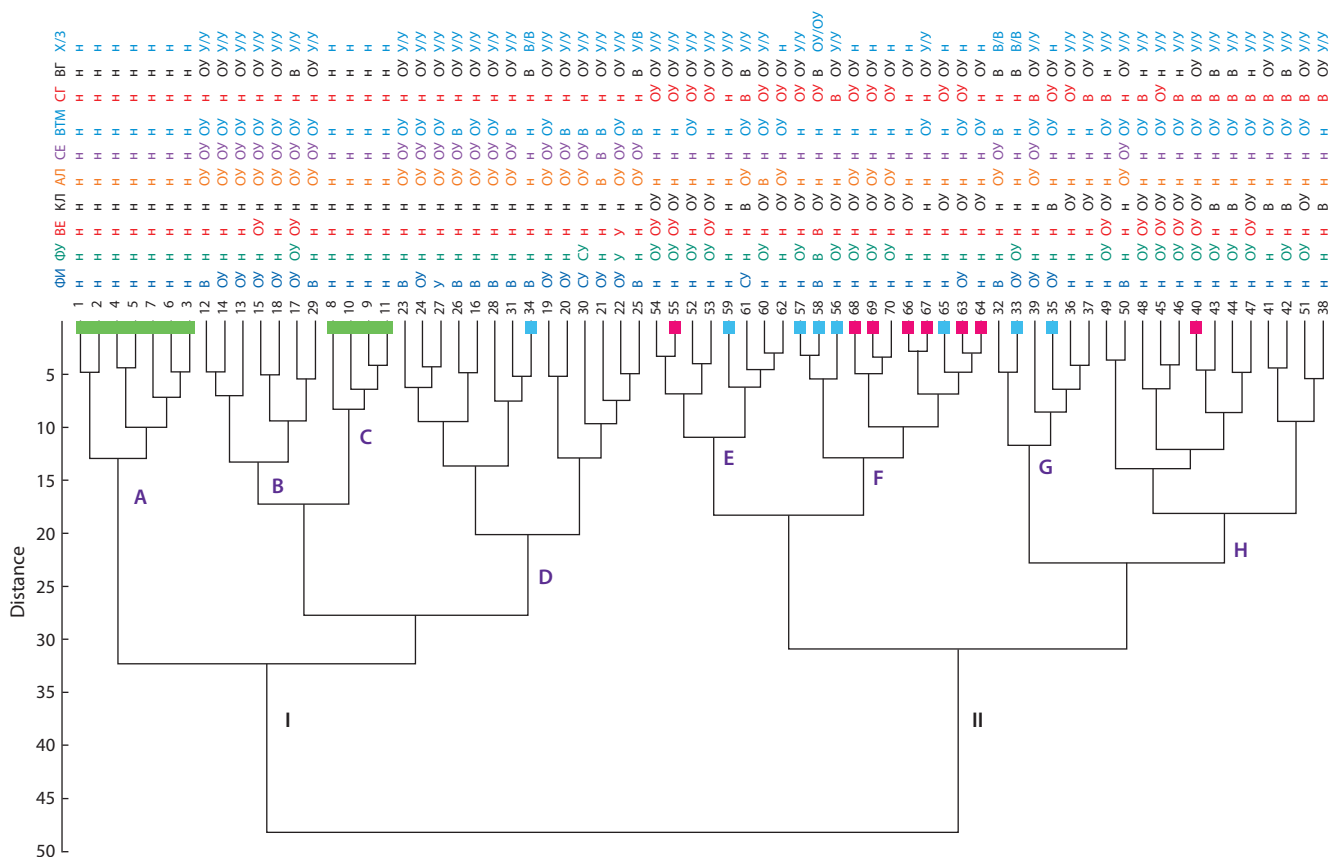


Рис. 1. Дендрограмма, построенная на основе данных AFLP-маркирования культивируемых и дикорастущих образцов томата.

Согласно табл. 1 пронумерованы образцы (1–70), а также указано наличие устойчивости к фитофторозу (ФИ), фузариозу (ФУ), вертициллезу (ВЕ), кладоспориозу (КЛ), альтернариозу (АЛ), септориозу (СЕ), вирусу табачной мозаики (ВТМ), серой гнили (СГ), вершинной гнили плода (ВГ), холоду (Х) и засухе (З). Степень устойчивости образцов: н – нет данных, В – восприимчив, У – устойчив, ОУ – относительно устойчив, СУ – среднестойчив. Боксами отмечены образцы: дикорастущие (зеленый), зарубежной селекции (розовый), селекции ООО «Селекционная фирма Гавриш» (синий); оставшиеся образцы – селекции ФНЦО.

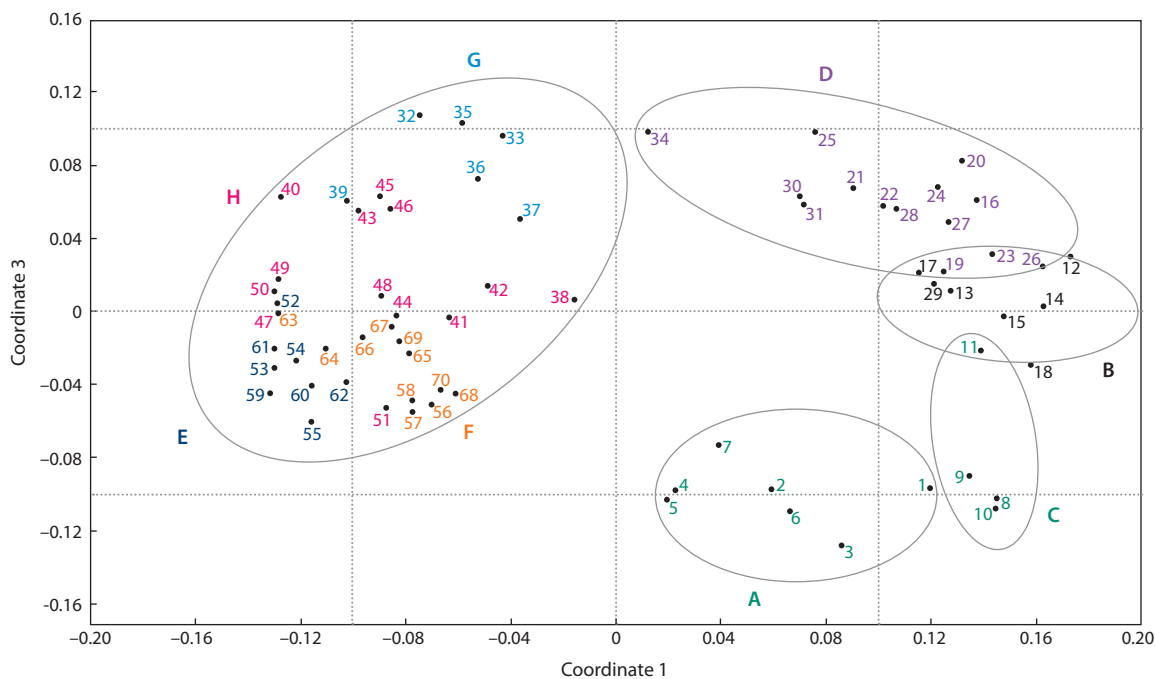


Рис. 2. График PCA данных AFLP-маркирования 70 культивируемых и дикорастущих образцов томата.

Нумерация образцов соответствует табл. 1. Показано распределение образцов по кладам в соответствии с дендрограммой на рис. 1: клады А и С выделены зеленым цветом, В – черным, D – сиреневым, E – темно-синим, F – оранжевым, G – голубым, H – розовым.

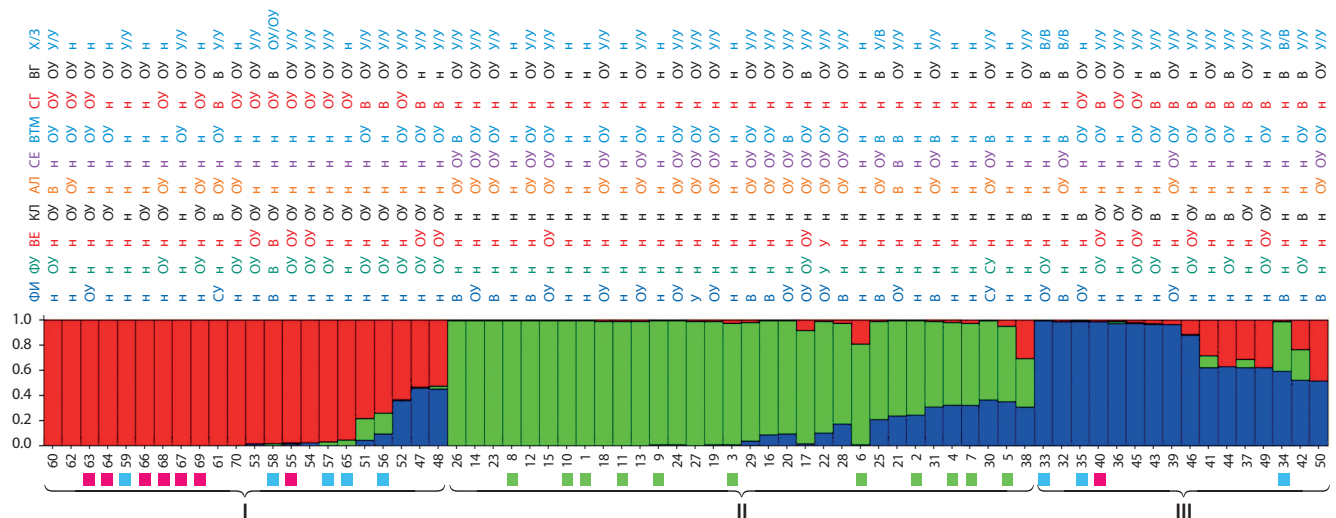


Рис. 3. Геномная структура 59 культивируемых и 11 дикорастущих образцов томата по данным AFLP-анализа ($k = 3$).

Согласно табл. 1 пронумерованы образцы (1–70), а также указано наличие устойчивости к фитофторозу (ФИ), фузариозу (ФУ), вертициллезу (ВЕ), кладоспориозу (КЛ), альтернариозу (АЛ), септориозу (СЕ), вирусу табачной мозаики (ВТМ), серой гнили (СГ), вершинной гнили плода (ВГ), холоду (Х) и засухе (З). Степень устойчивости образцов: н – нет данных, в – восприимчив, у – устойчив, ОУ – относительно устойчив, СУ – среднеустойчив. Боксами отмечены образцы: дикорастущие (зеленый), зарубежной селекции (розовый), селекции ООО «Селекционная фирма ГАВРИШ» (синий); оставшиеся образцы – селекции ФНЦО.

ды D и пять образцов клады В устойчивы к фитофторозу, остальные образцы этих клад восприимчивы к данному заболеванию.

Образцы подклад Е и Н, за исключением одного неохарактеризованного образца (62), показали устойчивость к холоду и засухе; в подкладах F и G устойчивы четыре и три образца соответственно. Подклады Е и F отличаются устойчивостью к вершинной гнили плода, серой гнили и кладоспориозу (кроме единичных восприимчивых или неохарактеризованных сортов). Около половины образцов подклады Е устойчивы к вертициллезу и фузариозу. Для большинства образцов подклады Н, а также двух групп подклады F тоже характерна устойчивость к фузариозу. У образцов подклады G встречается устойчивость к фитофторозу (см. рис. 1). Почти все образцы подклады Н – селекции ФНЦО. Образцы иностранной селекции (кроме 55-го и 40-го) выделяются в подкладу F, кластеризуясь вместе с образцами селекции ООО «Селекционная фирма ГАВРИШ».

В ходе исследования проведен также анализ структуры популяции 70 образцов томата, который выявил общие генетические блоки и их соотношение в каждом образце. Это позволило распределить анализируемые образцы на кластеры. Всего было проанализировано 16 вариантов количества подгрупп (k) от 3 до 18. Наилучший результат ($\text{LnLike} = -12363.6$) был получен для $k = 3$.

На графике геномная структура исследуемых 70 образцов томата представлена в виде различных соотношений трех кластеров (рис. 3). Все образцы дикорастущих видов, включая образцы *S. lycopersicum*, попали в кластер II. Анализ корреляций между распределением образцов по кластерам и рассматриваемыми признаками (см. табл. 1) показал тенденцию к объединению образцов по устойчивости к серой гнили, вершинной гнили плода, фузариозу, кладоспориозу и септориозу (блок I). Образцы с устойчивостью к холоду и засухе представлены в боль-

шом количестве во всех трех кластерах. Устойчивость к альтернариозу, септориозу и ВТМ наиболее характерна для кластера II (см. рис. 3). Также половина сортов в кластере II имеет устойчивость к вершинной гнили плода, а треть образцов – к фитофторозу. Образцы клады III отличались разными вариантами устойчивости; можно предположить кластеризацию по признаку устойчивости к ВТМ (11 из 16 образцов), а также по восприимчивости к серой гнили. За исключением образца 40 (блок III), все образцы томата иностранной селекции вошли в кладу I. Аналогично распределились образцы селекции ООО «Селекционная фирма ГАВРИШ» (четыре образца попали в блок I, три образца – в блок III) (см. рис. 3).

Обсуждение

В настоящей работе с помощью метода AFLP было проанализировано 11 дикорастущих и 59 культивируемых (*S. lycopersicum*) образцов томата преимущественно отечественной селекции (см. табл. 1). Отметим, что данные по устойчивости к различным заболеваниям (Госсортреестр; оригинаторы) известны не для всех анализируемых сортов; также их нет для взятых в исследование диких образцов. Вид *S. lycopersicum* (дикие образцы 7–11, см. табл. 1) происходит из влажных тропиков Южной Америки и является классическим примером чувствительной к холоду культуры (Rick, 1976). Остальные использованные дикие виды (образцы 1–6) произрастают в различных климатических зонах Южной Америки – от тропиков бассейна Амазонки до пустынь вдоль побережья и холодных высокогорных Анд (Nakazato et al., 2010). Это позволяет предположить наличие у образцов 1–6 устойчивости к холоду и засухе, а у образцов 7–11 – чувствительности к данным стрессам.

Каждый из 70 образцов был охарактеризован специфичным спектром фрагментов, полученных с использованием комбинации четырех пар праймеров (см. табл. 2).

Установленная эффективность (391 фрагмент, включая 114 полиморфных) была сопоставима с результатами исследований других авторов. К примеру, AFLP-анализ 21 сорта томата с четырьмя комбинациями праймеров выявил 298 фрагментов, включая 159 полиморфных (Suliman-Pollatschek et al., 2002). Процентное содержание полиморфных фрагментов (29.16 %) также укладывалось в известные данные по разным культурам: в ряде работ оно варьирует от 17.4 до 78.3 % (Kim et al., 1998; Vetelainen et al., 2005).

При анализе AFLP-данных различными биоинформационными методами исследуемые образцы томата распределились сходным образом (см. рис. 1–3). Дикие образцы обособились в отдельную группу (см. рис. 2 и 3) или же разделились по кладам в пределах кластера I (см. рис. 1). На дендрограмме образцы 1–6 (образцы видов томата, кроме *S. lycopersicum*) составили отдельную кладу А, а 8–11 (различные дикие образцы *S. lycopersicum*) – кладу С (см. рис. 1). При этом образец 7 (*S. lycopersicum* LA1673) объединился не с 8–11, а вошел в подкладу с красноплодными образцами 3–6 (*S. pimpinellifolium*, *S. galapagense*), что говорит о вероятной межвидовой интрогрессии. Сестринские клады В и D составлены сортами *S. lycopersicum*, для которых была показана устойчивость к засухе и/или холоду (см. рис. 1). С одной стороны, это подтверждает наши предположения о возможной устойчивости взятых в анализ диких образцов 1–6 к засухе/холоду, а с другой – предполагает данный признак и у образцов 7–11. Устойчивость к холоду/засухе более чем у половины образцов кластеров I и II (см. рис. 1) позволяет допустить наличие такой устойчивости у сортов, для которых нет данных. Кроме того, результаты могут свидетельствовать о присутствии в геноме сортов обоих кластеров признаков устойчивости к абиотическим стрессам, интрогрессированным из диких видов томата.

Достаточно четкое объединение образцов по происхождению показывает эффективность проведенного анализа и одновременно помогает проследить возможные связи родословной сортов как от одного оригинатора, так и между селекционными центрами.

Заключение

Таким образом, с помощью AFLP-генотипирования селективно-нейтральных участков генома сортов/линий *S. lycopersicum* и дикорастущих видов томата была показана кластеризация образцов по признакам устойчивости к биотическим и абиотическим стрессовым факторам, а также по происхождению от разных селекционных центров. Продемонстрирована перспективность AFLP с выбранным в данной работе сочетанием праймерных комбинаций для генотипирования сортов томата с целью отбора сортов с устойчивостью к различным стрессам. Полученные кладоспецифичные фрагменты могут стать основой для разработки специфичных молекулярных маркеров на хозяйственно важные признаки. Секвенирование полиморфных AFLP-фрагментов, которые лежат в основе различий между кластерами образцов, их картирование на геноме и оценка вариабельности таких участков среди анализируемых сортов могут быть перспективны для получения STS-маркеров.

Список литературы / References

- Дьяченко Е.А., Кулакова А.В., Щенникова А.В., Кочиева Е.З. Вариабельность генома отечественных сортов картофеля: данные AFLP-анализа. *С.-х. биология*. 2020;55(3):499-509. DOI 10.15389/agrobiology.2020.3.499rus.
[Dyachenko E.A., Kulakova A.V., Shchennikova A.V., Kochieva E.Z. Genome variability of Russian potato cultivars: AFLP-analysis data. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2020;55(3):499-509. DOI 10.15389/agrobiology.2020.3.499eng.]
- Дьяченко Е.А., Рыжова Н.Н., Вишнякова М.А., Кочиева Е.З. Молекулярно-генетическое разнообразие гороха (*Pisum sativum* L.) из коллекции ВИР на основе данных AFLP-анализа. *Генетика*. 2014;50(9):1040-1049. DOI 10.7868/S0016675814090045.
[D'yachenko E.A., Ryzhova N.N., Vishniakova M.A., Kochieva E.Z. Molecular genetic diversity of the pea (*Pisum sativum* L.) from the Vavilov Research Institute collection detected by AFLP analysis. *Genetika = Russ. J. Genet.* 2014;50(9):916-924. DOI 10.1134/S102279541409004X.]
- Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н. Анализ вариабельности семейства генов устойчивости у представителей вида перца *Capsicum annuum*. *Докл. Академии наук*. 2009;425(2):256-258.
[Kochieva E.Z., Ryzhova N.N. Analysis of resistance gene family diversity in pepper (*Capsicum annuum*). *Dokl. Biochem. Biophys.* 2009;425:73-75. DOI 10.1134/s1607672909020045.]
- Шамшин И.Н., Маслова М.В., Грязнева Ю.В. Анализ генетической коллекции сортов и гибридных форм томата по устойчивости к кладоспориозу с использованием ДНК-маркеров. *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(3):63-70. DOI 10.30901/2227-8834-2019-3-63-70.
[Shamshin I.N., Maslova M.V., Gryazneva Y.V. Analysis of a genetic collection of tomato cultivars and hybrid forms for resistance to leaf mold using DNA markers. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selekcii = Proceedings on Applied Botany, Genetics, and Breeding*. 2019;180(3):63-70. DOI 10.30901/2227-8834-2019-3-63-70. (in Russian)]
- Щербань А.Б. Перспективы маркер-ориентированной селекции томата *Solanum lycopersicum* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2019;23(5):534-541. DOI 10.18699/VJ19.522.
[Shcherban A.B. Prospects for marker-associated selection in tomato *Solanum lycopersicum* L. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019;23(5):534-541. DOI 10.18699/VJ19.522.]
- Arif I.A., Bakir M.A., Khan H.A., Al Farhan A.H., Al Homaidan A.A., Bahkali A.H., Sadoon M.A., Shobrak M. A brief review of molecular techniques to assess plant diversity. *Int. J. Mol. Sci.* 2010;11(5):2079-2096. DOI 10.3390/ijms11052079.
- Bamberg J.B., del Rio A.H. Selection and validation of an AFLP marker core collection for the wild potato *Solanum microdontum*. *Am. J. Potato Res.* 2014;91:368-375. DOI 10.1007/s12230-013-9357-5.
- Bita C.E., Zenoni S., Vriezen W.H., Mariani C., Pezzotti M., Gerats T. Temperature stress differentially modulates transcription in meiotic anthers of heat-tolerant and heat-sensitive tomato plants. *BMC Genomics*. 2011;12:384. DOI 10.1186/1471-2164-12-384.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 1980;32(3):314-331.
- Bryan G.J., McLean K., Waugh R., Spooner D.M. Levels of intra-specific AFLP diversity in tuber-bearing potato species with different breeding systems and ploidy levels. *Front. Genet.* 2017;8:119. DOI 10.3389/fgene.2017.00119.
- Chellemi D.O., Dankers H.A., Olson S.M., Hodge N.C., Scott J.W. Evaluating bacterial wilt-resistant tomato genotypes using a regional approach. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 1994;119(2):325-329. DOI 10.21273/JASHS.119.2.325.
- Despres L., Gielly L., Redoutet B., Taberlet P. Using AFLP to resolve phylogenetic relationships in a morphologically diversified plant species complex when nuclear and chloroplast sequences fail to

- reveal variability. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2003;27:185-196. DOI 10.1016/s1055-7903(02)00445-1.
- Elameen A., Klemsdal S.S., Dragland S., Fjellheim S., Roggli O.A. Genetic diversity in a germplasm collection of roseroot (*Rhodiola rosea*) in Norway studied by AFLP. *Biochem. Syst. Ecol.* 2008;36:706-715. DOI 10.1016/j.bse.2008.07.009.
- El-Esawi M.A., Alaraidh I.A., Alsahli A.A., Ali H.M., Alayafi A.A., Witczak J., Ahmad M. Genetic variation and alleviation of salinity stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Molecules.* 2018a;23(10):E2488. DOI 10.3390/molecules23102488.
- El-Esawi M.A., Al-Ghamdi A.A., Ali H.M., Alayafi A.A., Witczak J., Ahmad M. Analysis of genetic variation and enhancement of salt tolerance in French pea (*Pisum sativum* L.). *Int. J. Mol. Sci.* 2018b;19(8):E2433. DOI 10.3390/ijms19082433.
- Foolad M.R. Genome mapping and molecular breeding of tomato. *Int. J. Plant Genomics.* 2007;2007:64358.
- García-Martínez S., Andreani L., García-Gusano M., Geuna F., Ruiz J.J. Evaluation of amplified fragment length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm fingerprinting: utility for grouping closely related traditional cultivars. *Genome.* 2006;49(6):648-656. DOI 10.1139/g06-016.
- Hajjar R., Hodgkin T. The use of wild relatives in crop improvement: a survey of developments over the last 20 years. *Euphytica.* 2007;156(1):1-13. DOI 10.1007/s10681-007-9363-0.
- Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron.* 2001;4(1):1-9. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
- Hassan F.S.C., Solouki M., Fakheri B.A., Nezhad N.M., Masoudi B. Mapping QTLs for physiological and biochemical traits related to grain yield under control and terminal heat stress conditions in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Physiol. Mol. Biol. Plants.* 2018;24(6):1231-1243. DOI 10.1007/s12298-018-0590-8.
- Hubisz M.J., Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 2009;9(5):1322-1332. DOI 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x.
- Jacobs M.M., van den Berg R.G., Vleeshouwers V.G., Visser M., Mank R., Sengers M., Hoekstra R., Vosman B. AFLP analysis reveals a lack of phylogenetic structure within *Solanum* section *Petota*. *BMC Evol. Biol.* 2008;8:145. DOI 10.1186/1471-2148-8-145.
- Kardolus J.P., van Eck H.J., van den Berg R.G. The potential of AFLPs in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy (Solanaceae). *Plant Syst. Evol.* 1998;210:87-103. DOI 10.1007/BF00984729.
- Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G., Hodgkin T. Molecular tools in plant genetic resources conservation. IPGRI Technical Bulletin No. 2. Rome, Italy, 1997.
- Kim J.H., Joung H., Kim H.Y., Lim Y.P. Estimation of genetic variation and relationship in potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars using AFLP markers. *Am. J. Potato Res.* 1998;75(2):107-112. DOI 10.1007/BF02883885.
- Krishnamurthy S.L., Prashanth Y., Rao A.M., Reddy K.M., Ramachandra R. Assessment of AFLP marker based genetic diversity in chilli (*Capsicum annum* L. & *C. baccatum* L.). *Indian J. Biotechnol.* 2015;14:49-54.
- Labate J.A., Robertson L.D. Evidence of cryptic introgression in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) based on wild tomato species alleles. *BMC Plant Biol.* 2012;12:133. DOI 10.1186/1471-2229-12-133.
- Li X., Ding X., Chu B., Zhou Q., Ding G., Gu S. Genetic diversity analysis and conservation of the endangered Chinese endemic herb *Dendrobium officinale* Kimura et Migo (Orchidaceae) based on AFLP. *Genetica.* 2008;133:159-166. DOI 10.1007/s10709-007-9196-8.
- Maligeppagol M., Chandra G.S., Navale P.V., Deepa H., Rajeev P.R., Asokan R., Babu K.P., Bujji Babu C.S., Rao V.K., Krishna Kumar N.K. Anthocyanin enrichment of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit by metabolic engineering. *Curr. Sci.* 2013;105(1):72-80. <https://www.jstor.org/stable/24092679>.
- Manoko M.L.K., van den Berg R.G., Feron R.M.C., van der Weerden G.M., Mariani C. AFLP markers support separation of *Solanum nodiflorum* from *Solanum americanum* sensu stricto (Solanaceae). *Plant Syst. Evol.* 2007;267(1-4):1-11. DOI 10.1007/s00606-007-0531-4.
- Mba C., Tohme J. Use of AFLP markers in surveys of plant diversity. *Meth. Enzymol.* 2005;395:177-201. DOI 10.1016/S0076-6879(05)95012-X.
- McGregor C.E., van Treuren R., Hoekstra R., van Hintum T.J. Analysis of the wild potato germplasm of the series *Acaulia* with AFLPs: implications for *ex situ* conservation. *Theor. Appl. Genet.* 2002;104(1):146-156. DOI 10.1007/s001220200018.
- Miao L., Shou S., Cai J., Jiang F., Zhu Z., Li H. Identification of two AFLP markers linked to bacterial wilt resistance in tomato and conversion to SCAR markers. *Mol. Biol. Rep.* 2009;36(3):479-486. DOI 10.1007/s11033-007-9204-1.
- Nakazato T., Franklin R.A., Kirk B.C., Housworth E.A. Population structure, demographic history, and evolutionary patterns of a green-fruited tomato, *Solanum peruvianum* (Solanaceae), revealed by spatial genetics analyses. *Am. J. Bot.* 2012;99(7):1207-1216. DOI 10.3732/ajb.1100210.
- Nakazato T., Housworth E.A. Spatial genetics of wild tomato species reveals roles of the Andean geography on demographic history. *Am. J. Bot.* 2011;98(1):88-98. DOI 10.3732/ajb.1000272.
- Nakazato T., Warren D.L., Moyle L.C. Ecological and geographic modes of species divergence in wild tomatoes. *Am. J. Bot.* 2010;97:680-693. DOI 10.3732/ajb.0900216.
- Nurmansyah A.S.S., Migdadi H.M., Khan M.A., Afzal M. AFLP-based analysis of variation and population structure in mutagenesis induced faba bean. *Diversity.* 2020;12:303. DOI 10.3390/d12080303.
- Peralta I.E., Spooner D.M., Knapp S. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae). *Syst. Bot. Monogr.* 2008;84:1-186. DOI 10.2307/25027972.
- Povero G., Gonzali S., Bassolino L., Mazzucato A., Perata P. Transcriptional analysis in high-anthocyanin tomatoes reveals synergistic effect of *Aft* and *atv* genes. *J. Plant Physiol.* 2011;168:270-279. DOI 10.1016/j.jplph.2010.07.022.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics.* 2000;155(2):945-959. DOI 10.1093/genetics/155.2.945.
- Puchooa D. A simple, rapid and efficient method for the extraction of genomic DNA from lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). *Afr. J. Biotechnol.* 2004;3:253-255. DOI 10.5897/AJB2004.000-2046.
- Rick C.M. Tomato *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). In: Simmonds N.W. (Ed.) *Evolution of Crop Plants*. Longman, London, UK, 1976;268-273.
- Ronikier M. The use of AFLP markers in conservation genetics – a case study on *Pulsatilla vernalis* in the Polish lowlands. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002;7:677-684.
- Saliba-Colombani V., Causse M., Gervais L., Philouze J. Efficiency of RFLP, RAPD, and AFLP markers for the construction of an intraspecific map of the tomato genome. *Genome.* 2000;43(1):29-40.
- Sánchez-Teyer F., Moreno-Salazar S., Esqueda M., Barraza A., Robert M.L. Genetic variability of wild *Agave angustifolia* populations based on AFLP: a basic study for conservation. *J. Arid. Environ.* 2009;73:611-616. DOI 10.1016/j.jaridenv.2009.01.008.
- Semagn K., Bjørnstad Å., Ndjiondjop M.N. An overview of molecular marker methods for plants. *Afr. J. Biotechnol.* 2006;5(25):2540-2568. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/56080>.
- Sheeja T.E., Kumar I.P.V., Giridhari A., Minoo D., Rajesh M.K., Babu K.N. Amplified fragment length polymorphism: applications and recent developments. *Methods Mol. Biol.* 2021;2222:187-218. DOI 10.1007/978-1-0716-0997-2_12.
- Suliman-Pollatschek S., Kashkush K., Shats H., Hillel J., Lavi U. Generation and mapping of AFLP, SSRs and SNPs in *Lycopersicon esculentum*. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2002;7(2A):583-597.

- Swiecicka M., Filipecki M., Lont D., Van Vliet J., Qin L., Goverse A., Bakker J., Helder J. Dynamics in the tomato root transcriptome on infection with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. *Mol. Plant Pathol.* 2009;10:487-500. DOI 10.1111/j.1364-3703.2009.00550.x.
- Świecicka M., Skowron W., Cieszyński P., Dąbrowska-Bronk J., Matuszkiewicz M., Filipecki M., Koter M.D. The suppression of tomato defence response genes upon potato cyst nematode infection indicates a key regulatory role of miRNAs. *Plant Physiol. Biochem.* 2017;113:51-55. DOI 10.1016/j.plaphy.2017.01.026.
- Tatikonda L., Wani S.P., Kannan S., Beerelli N., Sreedevi T.K., Hoi-sington D.A., Devi P., Varshney R.K. AFLP-based molecular characterization of an elite germplasm collection of *Jatropha curcas* L.: a biofuel plant. *Plant Sci.* 2009;176:505-513. DOI 10.1016/j.plantsci.2009.01.006.
- The 100 Tomato Genome Sequencing Consortium, Afitos S., Schij-len E., de Jong H., de Ridder D., Smit S., Finkers R., Wang J., Zhang G., Li N., Mao L., ... Vriezen W., Janssen A., Datema E., Jahrman T., Moquet F., Bonnet J., Peters S. Exploring genetic variation in the tomato (*Solanum* section *Lycopersicon*) clade by whole-genome sequencing. *Plant J.* 2014;80(1):136-148. DOI 10.1111/tj.12616.
- Thomas C.M., Vos P., Zabeau M., Jones D.A., Norcott K.A., Chad-wick B.P., Jones J.D. Identification of amplified restriction fragment polymorphism (AFLP) markers tightly linked to the tomato *Cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum*. *Plant J.* 1995;8(5):785-794. DOI 10.1046/j.1365-313x.1995.08050785.x.
- van Ee B.W., Jelinski N., Berry P.E., Hipp A.L. Phylogeny and bio-geography of *Croton alabamensis* (Euphorbiaceae), a rare shrub from Texas and Alabama, using DNA sequence and AFLP data. *Mol. Ecol.* 2006;15:2735-2751. DOI 10.1111/j.1365-294X.2006.02970.x.
- Vetelainen M., Gammelgard E., Valkonen J.P.T. Diversity of Nordic landrace potatoes (*Solanum tuberosum* L.) revealed by AFLPs and morphological characters. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2005;52:999-1010. DOI 10.1007/s10722-003-6129-y.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van der Lee T.A.J., Hor-nes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1995;23:4407-4414. DOI 10.1093/nar/23.21.4407.
- Zawko G., Krauss S.L., Dixon K.W., Sivasithamparam K. Conser-vation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (Ericaceae). *Mol. Ecol.* 2001;10:2389-2396. DOI 10.1046/j.0962-1083.2001.01378.x.

ORCID ID

A.V. Kulakova orcid.org/0000-0002-3124-525X
E.A. Dyachenko orcid.org/0000-0002-0570-9751
A.V. Shchennikova orcid.org/0000-0003-4692-3727
O.N. Pyshnaya orcid.org/0000-0001-9744-2443
E.A. Dzhos orcid.org/0000-0002-2216-0094

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ. Авторы благодарят Я. Тукусер за помощь в выделении геномной ДНК.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 19.05.2022. После доработки 19.07.2022. Принята к публикации 20.07.2022.