

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ В СЕЛЕКЦИИ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ (*Brassica oleracea* L.) НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ФУЗАРИОЗНОМУ УВЯДАНИЮ

© 2023 г. Е. В. Дубина<sup>1, 2, \*</sup>, Ю. А. Макуха<sup>1</sup>, А. М. Артемьева<sup>3</sup>, Д. А. Фатеев<sup>3</sup>, С. В. Гаркуша<sup>1</sup>, О. Л. Горун<sup>1</sup>, С. А. Лесняк<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научный центр риса, Краснодар, пос. Белозерный, 350921 Россия

<sup>2</sup>Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина, Краснодар, 350044 Россия

<sup>3</sup>Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, 190031 Россия

\*e-mail: lenakrug1@rambler.ru

Поступила в редакцию 04.04.2023 г.

После доработки 19.04.2023 г.

Принята к публикации 04.05.2023 г.

В настоящей статье приведены результаты исследований по определению информативных ДНК-маркерных систем, обеспечивающих надежный контроль наличия гена устойчивости к фузариозу *Foc I* в селекционном материале капусты белокочанной. На начальном этапе работ 14 молекулярных маркеров, взятых из базы данных VegMarks и литературных источников, были апробированы на контрастных по резистентности к фузариозу изогенных линиях капусты белокочанной (устойчивая линия ДТ-46 и восприимчивая линия Кб1П). Установлено, что InDel-маркер M10 и SSR-маркеры Frg13 и O110-D01 выявляют полиморфизм между контрастными образцами капусты белокочанной. Также проведен ПЦР-анализ на растениях сегрегирующей F<sub>2</sub> популяции гибридной комбинации ДТ-46 × Кб1П с помощью данных маркеров и выполнено фитопатологическое тестирование. В результате проведения статистического анализа расщепления обнаружено, что только SSR-маркер O110-D01 является сонаследуемым с признаком устойчивости к фузариозу, поскольку только по этому локусу наблюдается ожидаемая сегрегация растений F<sub>2</sub> по генотипу 1 : 2 : 1 согласно закону Менделя. Установлено, что наименьшая частота рекомбинации – между геном устойчивости *Foc I* и маркером O110-D01 (1.6%).

**Ключевые слова:** капуста белокочанная, фузариозное увядание, SSR-маркер, ПЦР-анализ, сегрегирующая популяция.

**DOI:** 10.31857/S001667582310003X, **EDN:** ZTYMZI

Капуста белокочанная является значимой овощной культурой семейства крестоцветных, возделываемой по всему миру. Одной из наиболее деструктивных болезней для данной культуры считается фузариозное увядание, вызываемое фитопатогенным грибом *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* (Wollenweb.) [1]. Колонизация растения этим патогеном ведет к пожелтению листьев, увяданию, дефолиации (у старых растений), прекращению роста и, в конце концов, к гибели растения. В результате урожай претерпевает значительные потери. Теплая погода является благоприятным условием для развития болезни, и, учитывая растущие уровни производства культуры в регионах с умеренным климатом, эта болезнь становится настоящей проблемой [2, 3]. Глобальное потепление также может спровоцировать увеличение количества случаев заболевания фузариозом [4].

В последние годы фузариоз является наиболее распространенным заболеванием капусты на Кубани и поражает растения как в открытом, так и в защищенном грунте. Заболевание проявляется во всех фазах вегетации растения. В отдельные годы гибель растений от фузариоза может составлять 20–30% и более. Неустойчивые к патогену образцы выпадают от фузариоза практически полностью. Так например в 2010 г. фузариозом в Краснодарском крае поразилось более 30% сортов и гибридов капусты белокочанной отечественной и зарубежной селекции [5].

Традиционные методы защиты от фузариоза, такие как химический контроль или применение севооборота, почти не помогают в решении данной проблемы. Отмечено, что наиболее эффективным методом контроля болезни является выращивание устойчивых сортов [6, 7]. В последние годы при-

менение MAS (маркер-опосредованная селекция) в селекции капусты белокочанной на устойчивость к фузариозу является эффективным методом борьбы с данной болезнью. Особенно эффективным является применение ПЦР-анализа с использованием SSR- и InDel-маркеров [8–10]. Практика ведения селекционного процесса с применением молекулярных маркеров уже успешно используется на других важных сельскохозяйственных культурах (рис, перец [11], томаты [12] и др.).

Из литературных источников следует, что в настоящее время отсутствуют универсальные молекулярные маркеры для обеспечения высокой и надежной оценки по идентификации гена резистентности к фузариозу *Foc1* [13] в селекционном материале капусты белокочанной различного происхождения (отечественного и зарубежного). В связи с этим было принято решение о проведении исследования по определению информативных ДНК-маркерных систем для выявления гена устойчивости к *F. oxysporum* с целью ускорения и повышения эффективности селекционного процесса на устойчивость к фузариозному увяданию.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужили контрастные формы капусты белокочанной (устойчивая изогенная линия ДТ-46 и восприимчивая изогенная линия К61П) к фузариозу, а также 62 растения поколения F<sub>2</sub> гибридной комбинации ДТ-46 × К61П, отобранные в отделе овощекртофелеводства ФГБНУ “ФНЦ риса”. ДНК из листьев капусты выделяли по схеме М. Мюррея и В. Томпсона [14] с использованием цетилтриметиламмоний бромида (СТАВ) в качестве лизирующего буфера растительных клеток.

При проведении молекулярно-генетических исследований по идентификации аллелей устойчивости к фузариозу у капусты белокочанной применяли нейтральные кодоминантные микросателлитные (SSR) маркеры, взятые из базы данных VegMarks на сайте (<https://vegmarks.nivot.afrc.go.jp/VegMarks/app/page/home>), расположенные в шестой группе сцепления, где расположен ген устойчивости к фузариозу *Foc1*. Также при постановке ПЦР использовали кодоминантные InDel-маркеры A1 и M10 [13], кодоминантный SSR-маркер Frg13 [15], выявляющие высокий полиморфизм у контрастных по устойчивости к фузариозу образцов капусты белокочанной, тесно сцепленные с геном устойчивости к фузариозу *Foc1* (0.6, 1.2, 0.1 cM соответственно). Нуклеотидные последовательности использованных в работе праймеров представлены в табл. 1.

Аmplификацию ДНК проводили в амплификаторах “Терцик” и “Bio Rad” с оптимизацией условий ПЦР. При апробации маркеров из базы

данных VegMarks использовали протокол амплификации с градиентом температуры отжига праймеров: первичная денатурация – 15 мин при 95°C; денатурация – 2 мин при 94°C; следующие 25 циклов: денатурация – 2 мин при 94°C, отжиг праймеров – 30 с при 65°C, синтез – 45 с при 72°C; затем каждый второй цикл температуру отжига понижают на 1°C до достижения температуры 55°C и остальные 20 циклов: денатурация – 1 мин при 94°C, отжиг праймеров – 30 с при 55°C, синтез – 45 с при 72°C, завершающий цикл синтеза – 1 мин при 72°C.

При проведении ПЦР с праймерами из работ [13, 15] опирались на следующую программу: первичная денатурация – 5 мин при 94°C, следующие 36 циклов: денатурация – 30 с при 94°C, отжиг праймеров – 30 с при 55°C, элонгация – 45 с при 72°C; финальная элонгация – 7 мин при 72°C.

Разделение продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 2%-ном агарозном (80 мин) и 8%-ном полиакриламидном геле (3 ч) при напряжении 130 и 240 В соответственно [16]. Визуализацию результатов электрофореза проводили в УФ-свете с использованием гелъдокументирующей системы GelDocXR+.

Для проведения фитопатологического тестирования на устойчивость к фузариозу растения капусты белокочанной выращивали в пластиковых сосудах с почвой, предварительно зараженной водной суспензией гриба *F. oxysporum*, относящегося к расе 1 с титром конидий 10<sup>6</sup> в 1 мл. Температура почвы при выращивании семян составляла 26–28°C. Оценку проявления болезни проводили через 21 день после появления всходов по четырехбалльной шкале, предложенной “ФНЦ риса” [5]. При подсчете результатов фитопатологического тестирования на устойчивость к фузариозу растения с 2–3 баллами поражения считались неустойчивыми по фенотипу, а растения со степенью поражения 0–1 балл оценивали как устойчивые.

Для проведения оценки значимости различий в расщеплении в сегрегирующих популяциях между фактическим числом растений в выборке и теоретически ожидаемым использовали метод  $\chi^2$  (хи-квадрат) [17]. Частоту рекомбинации между геном устойчивости к фузариозу *Foc1* и молекулярными маркерами рассчитывали как отношение числа растений с наличием или отсутствием ДНК-маркера, несоответствующих фенотипическому проявлению признака устойчивости к фузариозу к общему числу растений, умноженное на 100 [18]. Анализ уровня полиморфизма использованных в работе молекулярных маркеров проводили путем расчета индекса полиморфного содержания (PIC) по формуле [19]:  $PIC = 1 - \sum (P_i)^2$ , где  $P_i$  – частота встречаемости  $i$ -го аллеля.

**Таблица 1.** Нуклеотидная последовательность праймеров для капусты белокочанной

№	Название маркера	Последовательности праймеров
1	BRMS-235	F – GGATCACAATCGTGTCTAGTAATC R – AGCATATCCATCAAGAGCTGGT
2	KBrH071B03R	F – AGACCGGCACGTATATTACCTGAA R – GTTTCATCGAGATCCGAGAAACGAAC
3	KBrB027H17F	F – AGCAGATTCATCAAGATCCAAAAC R – GTTCTTCAAGGCAAGGAAGATCAG
4	Na12-G11	F – TCAACAAAATCTAACCCAGTAAAGC R – TTCCTTGCCTTGAATCATCC
5	KBrB022L13F	F – AGATATCCGGATCCGTAAGTTTTA R – GTTTGTAATATCCCGATTTGCATCCT
6	BRMS-227	F – ACCATCTCGCTATTTATTTATGAAG R – GACGATTTGATAGAGGAAAGGAAT
7	KBrH101E14F	F – ATTCGAAATCAAATCAAACCGCTC R – GTTTCATCCAACCACGTTTTACAGA
8	BRMS-252	F – ACTGGACTTATGTCTGAACAAGGAC R – CTGGCCAACATCAACATATAAACTA
9	BRMS-201	F – GTAATAACAGTTCTGCCTCTGCTC R – CTGCTGAATTAATTGCTGCTTCT
10	KBrH107C03R	F – ACAAGCTCTGTATTTTGGATTCGG R – GTTCCCCGAATAGTCTTTCCTTTTTTCG
11	O110-D01	F – TCTCTGCCAAAAGCAAATAGC R – CTTGGCTCTCTCTACCACC
12	Frg13	F – ACCAGAGGCAGTTTTGGTTG R – TCTTGCAACCCATGTCAAAA
13	A1	F – TGACATAACCACTAGGAGCA R – GCAGAAGCTTTGATGAAGTT
14	M10	F – CACTTGCTCCAGTTTCTGTA R – AACTATGGATAAAAGGCGTG

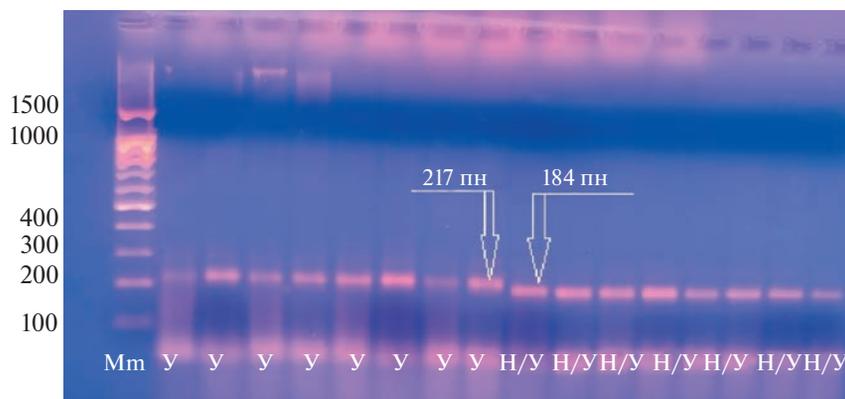
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Первый этап – проведение молекулярно-генетических исследований по выявлению информативных ДНК-маркерных систем для идентификации аллелей устойчивости к фузариозу. SSR-маркеры, взятые из базы данных VegMarks, расположенные в шестой группе сцепления, где находится ген устойчивости к фузариозу *Foc1* (1–11 маркер, табл. 1), были апробированы на контрастных по резистентности к фузариозу изогенных линиях капусты белокочанной. Из этих маркеров информативным оказался только O110-D01, результаты апробации которого представлены на рис. 1. На представленной электрофореграмме видна четкая аллельная разница между изучаемыми контрастными по устойчивости к фузариозу изогенными линиями. Размер устойчивого аллеля – 217 пн, неустойчивого – 184 пн.

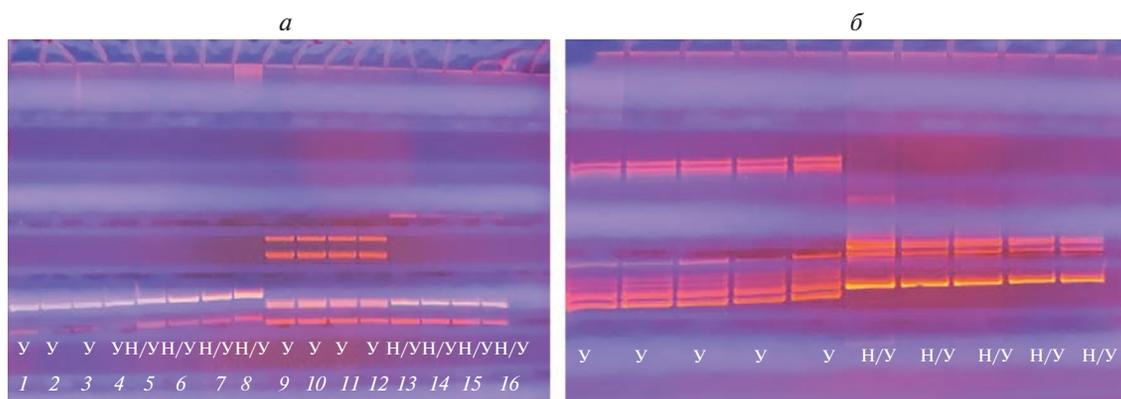
На следующем этапе была проведена апробация двух кодоминантных InDel-маркеров (A1 и M10), выявляющих высокий полиморфизм у кон-

трастных по устойчивости к фузариозу образцов капусты белокочанной [13], и SSR-маркера Frg13, тесно сцепленного с геном устойчивости к фузариозу *Foc1* (0.1 cM) [15]. Результат электрофоретического разделения ПЦР-продуктов по данным маркерам представлен на рис. 2. Из рис. 2,а видно, что по маркеру A1 нет аллельной разницы между устойчивыми и неустойчивыми образцами, и их ДНК-профили одинаковы; для M10 у контрастных по устойчивости образцов наблюдаются полиморфные аллели. Из рис. 2,б видно, что у маркера Frg13 (близко расположенного к гену устойчивости к фузариозу *Foc1*) также наблюдается аллельная разница между контрастными формами. Следовательно, имело смысл изучить сонаследование данного маркера на сегрегирующей F<sub>2</sub>-популяции по признаку устойчивости к фузариозу.

Далее отобранные ранее маркеры были апробированы на растениях F<sub>2</sub> сегрегирующей популяции гибридной комбинации ДТ-46 × К61П,



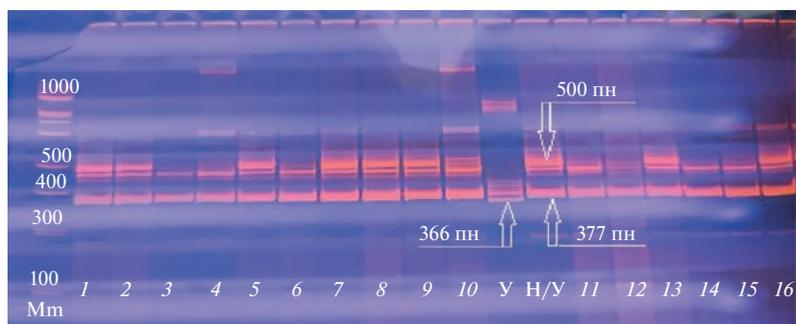
**Рис. 1.** Визуализация продуктов ПЦР по маркеру O110-D01 в 2%-ном агарозном геле. Mm – маркер молекулярной массы, У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия Кб1П.



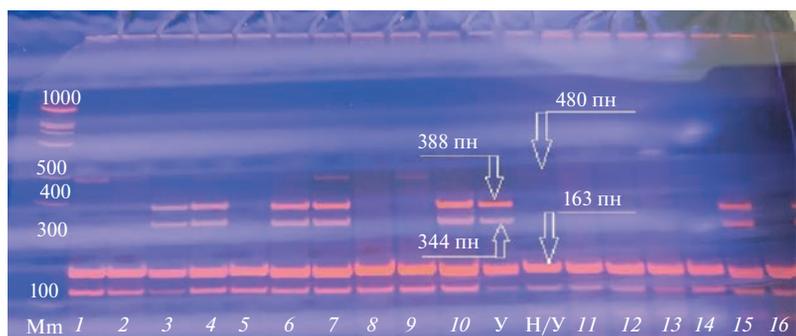
**Рис. 2.** Визуализация продуктов ПЦР по маркерам A1, M10 (а) и Frg13 (б) в 8%-ном полиакриламидном геле. Для рис. 2,а: У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия Кб1П, 1–8 – растения, анализируемые по маркеру A1, 9–16 – растения, анализируемые по маркеру M10. Для рис. 2,б: У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия Кб1П.

что отражено на рис. 3–5. На рис. 3 видно, что по локусу Frg13 не наблюдается расщепление растений по генотипу на гомо- и гетерозиготы, как это должно быть согласно второму закону Менделя, поэтому данный маркер не пригоден для ранжирования селекционных образцов капусты белокочанной по признаку устойчивости к фузариозу. При анализе электрофореграммы рис. 4 можно заметить, что уже среди первых проанализированных растений выявляется расщепление по генотипу, т. е. растения №№ 1, 2, 5, 8, 11, 12, 13, 14, 16 имеют аллели восприимчивости размером 163 и 480 пн, растения №№ 3, 15 имеют в генотипе аллели устойчивости размером 344 и 388 пн, а растения №№ 4, 6, 7, 10 гетерозиготны. На рис. 5 видно, что по изучаемому маркеру растения №№ 33–35, 38, 47 несут в генотипе только аллель восприимчивости, растения №№ 39, 41, 42, 44 несут только донорный аллель устойчивости, а растения №№ 36, 37, 40, 43, 45, 46, 48 являются гетерозиготами.

В завершение молекулярно-генетических исследований был проведен анализ по наиболее информативным маркерам O110-D01, M10 всей выборки сегрегирующей популяции (62 растения) для установления окончательного соотношения по генотипу. Для изучения сонаследования отобранных маркеров с признаком устойчивости к фузариозу проводилось фитопатологическое тестирование растений F<sub>2</sub> гибридной комбинации ДТ-46 × Кб1П. Оценку поражаемости образцов проводили в динамике роста и развития растений по шкале, разработанной “ВНИИ риса” [5]. По результатам тестирования было установлено, что симптомы поражения фузариозом у растений сегрегирующей популяции капусты белокочанной соответствовали 1 и 2 баллам, т.е. наблюдалось только поражение отдельных листьев без остановки роста и гибели сеянцев, что отражено на рис. 6. На рис. 6,а видны пожелтение, увядание и усыхание семядольных листьев, что соответствует 1 баллу поражения. На 6,б помимо усыхания и



**Рис. 3.** Визуализация продуктов ПЦР по маркеру Frg13 в 8%-ном полиакриламидном геле. Mm – маркер молекулярной массы, 1–16 – растения поколения F<sub>2</sub> гибридной комбинации ДТ-46 × К61П, У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия К61П.

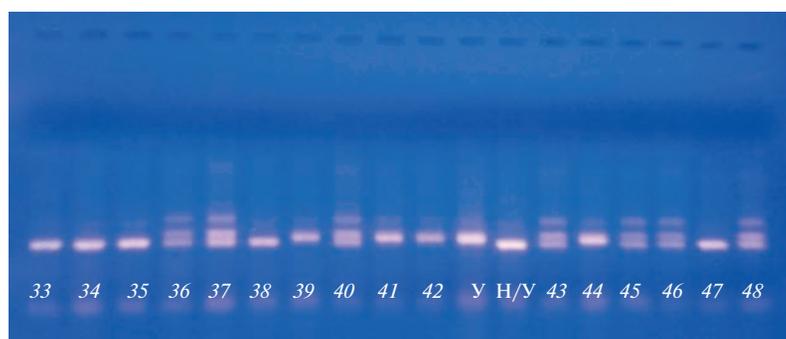


**Рис. 4.** Визуализация продуктов ПЦР по маркеру M10 в 8%-ном полиакриламидном геле. Mm – маркер молекулярной массы, 1–16 – растения поколения F<sub>2</sub> гибридной комбинации ДТ-46 × К61П, У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия К61П.

увядания семядольных листьев наблюдается пожелтение настоящих листьев – 2 балла поражения по шкале “ВНИИ риса” [5].

На заключительном этапе исследования проводился сравнительный анализ результатов ДНК-анализа с использованием молекулярных маркеров (M10 и O110-D01), выявивших все типы аллельного состояния гена устойчивости к фузариозу у

растений F<sub>2</sub> с результатами фитопатологического тестирования (табл. 2). Из табл. 2 следует, что растения F<sub>2</sub> по маркеру O110-D01 имеют следующее соотношение по генотипу: 16 : 31 : 15, что соответствует менделевскому закону расщепления 1 : 2 : 1 и подтверждается статистическим анализом ( $\chi^2 = 0.09 < \chi^2(\text{крит.}) = 5.99$ ), а по маркеру M10 – 9 : 17 : 36, что не удовлетворяет закону Менделя, так



**Рис. 5.** Визуализация продуктов ПЦР по маркеру O110-D01 в 2%-ном агарозном геле. 33–48 – растения поколения F<sub>2</sub> гибридной комбинации ДТ-46 × К61П, У – изогенная устойчивая линия ДТ-46, Н/У – изогенная неустойчивая линия К61П.



Рис. 6. Симптомы поражения фузариозом, соответствующие одному баллу (а) и двум баллам поражения (б).

как ( $\chi^2 = 33.69 > \chi^2(\text{крит.}) = 5.99$ ). Окончательное соотношение по фенотипу следующее: 48 (устойчивые) : 14 (неустойчивые), что удовлетворяет менделевскому 3 : 1, т.к. устойчивость к фузариозу имеет моногенный доминантный тип [20], и подтверждается методом хи-квадрат ( $\chi^2 = 0.34 < \chi^2(\text{крит.}) = 3.84$ ).

Также была рассчитана частота рекомбинации между геном устойчивости к фузариозу и маркерами M10 и O110-D01 [18] и обнаружено, что наименьшая частота рекомбинации (1.6%) наблюдается у маркера O110-D01, а маркер M10 находится существенно дальше от целевого гена (45.1%) и не представляет существенного интереса. Таким образом, только маркер наследуется сцепленно с геном устойчивости к фузариозу, так как по этому локусу отсутствует ожидаемое при независимом наследовании расщепление 1 : 1 : 1 : 1 ( $\chi^2 = 93.3 > \chi^2(\text{крит.}) = 7.81$ ), наблюдается сегрегация растений 1 : 2 : 1 согласно закону Менделя и наименьшая частота рекомбинации.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам предыдущих исследований тип наследования устойчивости капусты белокочанной к фузариозу носит моногенный доминантный тип [10], что подтверждается и результатами проведенного в нашем исследовании фитопатологического тестирования на растениях сегрегирующей  $F_2$  популяции. Апробированные в ходе молекулярно-генетических работ маркеры A1, M10, Frg13, тесно сцепленные с геном устойчивости к фузариозу *Foc1*, не показали должного высокого полиморфизма, какой наблюдается в работах Н. Lv и X. Liu [13, 15]. В наших исследованиях маркер A1 не выявляет аллельную разницу у контрастных по устойчивости к фузариозу образцов капусты белокочанной, Frg13 не выявляет гетерозиготы, а маркер M10, хоть и дифференцирует растения на гомо- и гетерозиготы в сегрегирующей популяции и имеет высокий индекс полиморфного содержания (PIC = 0.88), не удовлетворяет менделевскому закону, т. е. данный маркер

Таблица 2. Анализ сонаследования молекулярных маркеров среди растений сегрегирующей популяции  $F_2$

ДНК-маркер	F <sub>2</sub> – растения гибридной комбинации ДТ-46 × К61П									Частота рекомбинации, %
	сегрегация растений по генотипу		сегрегация растений по фенотипу		Маркер/устойчивость к фузариозу					
	+ : ± : –	$\chi^2$	R : S	$\chi^2$	R/+	S/+	R/–	S/–	$\chi^2$	
O110-D01	16 : 31 : 15	0.09	48 : 14	0.34	47	0	1	14	93.3	1.6
M10	9 : 17 : 36	33.69			23	3	25	11	20.8	45.1

Примечание. R – устойчивость, S – неустойчивость, “+” – присутствует молекулярный маркер, “–” – отсутствует молекулярный маркер. Для уровня значимости  $p = 0.05$  и  $d.f. = 1$  критическое значение  $\chi^2(\text{крит.}) = 3.84$ , для  $d.f. = 2$   $\chi^2(\text{крит.}) = 5.99$ , а для  $d.f. = 3$   $\chi^2(\text{крит.}) = 7.81$ .

не наследуется с признаком резистентности к фузариозу.

Полученные данные указывают на необходимость более тщательного подбора молекулярных маркеров, которые бы были универсальны и могли бы достоверно идентифицировать ген устойчивости на селекционном материале различного происхождения. На основании результатов проведенных нами молекулярно-генетических исследований, фитопатологического тестирования и статистического анализа, можно сделать вывод, что только SSR-маркер O110-D01 является информативным кодоминантным маркером, наследуемым с признаком устойчивости к фузариозу и высокополиморфным (PIC = 0.51). Он будет включен в селекционный процесс для ускоренного создания устойчивых генотипов капусты белокочанной к фузариозу на юге России. Такие растения будут обладать повышенной урожайностью и нужными морфометрическими характеристиками, которые позволят решить проблему импортозамещения и получения продуктов здорового питания (экологически безопасной продукции, выращенной с применением пониженного количества средств химической защиты).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда, ФГБНУ «Федерального научного центра риса» в рамках научного проекта № МФИ-П-20.1/41.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pu Z., Shimizu M., Zhang Y. et al. Genetic mapping of a fusarium wilt resistance gene in *Brassica oleracea* // Mol. Breed. 2012. № 30. P. 809–818. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9665-8>
2. Bosland P.W., Williams P.H., Morrison R.H. Influence of soil temperature on the expression of yellows and wilt of crucifers by *Fusarium oxysporum* // Plant Dis. 1988. № 72. P. 777–780. <https://doi.org/10.1094/PD-72-0777>
3. Farnham M.W., Keinath A.P., Smith J.P. Characterization of fusarium yellows resistance in collard // Plant Dis. 2001. № 85. P. 890–894. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.8.890>
4. Berrocal-Lobo M., Molina A. Arabidopsis defense response against *Fusarium oxysporum* // Trends Plant Sci. 2007. № 13. P. 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2007.12.004>
5. Королева С.В., Дякунчик С.А., Ситников С.В. Иммунологическая оценка селекционного материала при создании гибридов F1 белокочанной капусты с групповой устойчивостью к фузариозу и сосудистому бактериозу (методические рекомендации). М.: 2012. 16 с.
6. Arden S. Fusarium Yellows of Cabbage and Related Crops. N.Y.: Vegetable Crops, 1979. 730 p.
7. Keinath A.P., Farnham M.W., Smith P. Reactions of 26 cultivars of *Brassica oleracea* to yellows in naturally infested soil // Biol. Cult. Tests. 1998. № 13. 155 p.
8. Collard B.C.Y., Jahufer M.Z.Z., Brouwer J.B., Pang E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts // Euphytica. 2005. № 142. P. 169–196. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5>
9. Vali U., Brandstrom M., Johansson M., Ellegren H. Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations // BMC Genetic. 2008. № 9. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-8>
10. Lv H. Fang Z., Yang L. et al. Research on screening of resistant resources to fusarium wilt and inheritance of the resistant gene in cabbage // Acta Horticult. Sinica. 2011. V. 5. № 38. P. 875–885. <https://doi.org/10.16420/j.issn.0513-353x.2011.05.001>
11. Дубина Е.В. ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур: Дис. ... д-ра биол. наук. Краснодар: ВНИИ риса, 2019. 275 с.
12. Фесенко И.А., Куклев М.Ю., Карлов Г.И. Создание ДНК-маркера устойчивости томата к фузариозному увяданию // Известия ТСХА. № 1. 2007. С. 66–72.
13. Lv H., Yang L., Kang J. et al. Development of InDel markers linked to fusarium wilt resistance in cabbage // Mol. Breed. 2013. V. 32. P. 961–967. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9925-x>
14. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucl. Ac. Res. 1980. V. 10. P. 4321–4325.
15. Liu X., Han F., Kong C. Rapid introgression of the fusarium wilt resistance gene into an elite cabbage line through the combined application of a microspore culture, genome background analysis, and disease resistance-specific marker assisted foreground selection // Front. in Plant Sci. 2017. V. 8. Article 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00354>
16. Кутлунина Н.А., Ермошин А.А. Молекулярно-генетические методы в исследовании растений. Екатеринбург, 2017. 142 с.
17. Батин Н.В. Компьютерный статистический анализ данных. Минск, 2008. 160 с.
18. Нгуен М.Л., Монахос Г.Ф., Комахин Р.А., Монахос С.Г. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме A05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) // Генетика. 2018. Т. 54. № 3. С. 306–315.
19. Аджиева В.Ф., Некрашевич Н.А., Малышев С.В. и др. Сравнительный анализ полиморфизма микросателлитных маркеров генотипов томата (*Solanum lycopersicum* L.) белорусской и зарубежной селекции // Мол. и прикладная генетика. 2010. Т. 11. С. 7–11.
20. Ramirez-Villapadua J., Endo R.M., Bosland P., Williams P.H. A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *conglutinans* that attacks cabbage with type A resistance // Plant Dis. 1985. № 69. P. 612–613.

**Molecular Marking in *Brassica oleracea* L. Breeding for Resistance to Fusarium Wilt**

**E. V. Dubina<sup>a, b, \*</sup>, Yu. A. Makukha<sup>a</sup>, A. M. Artem'eva<sup>c</sup>, D. A. Fateev<sup>c</sup>,  
S. V. Garkusha<sup>a</sup>, O. L. Gorun<sup>a</sup>, and S. A. Lesnyak<sup>a</sup>**

<sup>a</sup>*Federal Scientific Rice Centre, Krasnodar, 350921 Russia*

<sup>b</sup>*Kuban State Agrarian University, Krasnodar, 350004 Russia*

<sup>c</sup>*Federal Research Centre Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,  
Saint-Petersburg, 190031 Russia*

*\*e-mail: lenakrug1@rambler.ru*

This article presents the results of research on the identification of informative DNA marker systems, providing reliable control of the resistance gene to fusarium wilt *Foc1* presence in white cabbage breeding material. At the beginning of the work 14 molecular markers, taken from VegMarks database and literature sources were tested on isogenic white cabbage lines with contrasting resistance to fusarium wilt (resistant line DT-46 and susceptible line Kb1P). InDel-marker M10 and SSR-markers Frg13 and O110-D01 have been ascertained to show polymorphism between white cabbage forms with contrasting resistance to fusarium wilt. Also PCR-analysis of segregating F<sub>2</sub>-population plants of hybrid combination DT-46 × Kb1P using these markers and phytopathology testing have been conducted. As a result of statistical analysis of segregation it has been found that SSR-marker O110-D01 only is cosegregated with the trait of resistance to fusarium wilt as expected segregation of F<sub>2</sub>-plants by genotype 1 : 2 : 1 according to Mendel's law, the least recombination frequency between the resistance gene *Foc1* and the marker (1.6%) has just been observed by this locus only and highly polymorphic (PIC = 0.51).

**Keywords:** white cabbage, fusarium wilt, SSR-marker, PCR-analysis, segregating population.