

УДК: 635.132:635-152:612.314.3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ
У РЯДА ВИДОВ РОДА *FUSARIUM***

А.Н. СЕМЕНОВ¹, М.Г. ДИВАШУК², М.С. БАЖЕНОВ², Г.И. КАРЛОВ²,
В.И. ЛЕУНОВ¹, А.Н. ХОВРИН¹, А.А. ЕГОРОВА¹, Л.М. СОКОЛОВА¹,
Т.А. ТЕРЕШОНКОВА¹, К.Л. АЛЕКСЕЕВА¹, В.М. ЛЕУНОВА³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства;
² РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева;
³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова)

В статье представлены результаты эксперимента по изучению возможности применения SSR маркеров, характеризующихся высокой воспроизводимостью, мультиаллельностью, кодоминантным наследованием, для изучения уровня полиморфизма, выявляемого с их помощью на изолятах *Fusarium*, собранных на территории России. Приведены результаты изучения с помощью 7 микросателлитных маркеров полиморфизма 46 различных изолятов трех видов: *F. oxysporum* (*Fo*), *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. roae* (*Fr*), — полученных из почвы и/или растений в Ростовской области. Были использованы маркеры, показавшие возможность перекрестной амплификации на других видах *Fusarium* наравне с видами, на которых они были разработаны. Для всех трех видов наиболее информативными оказывались разные маркеры. Для *F. oxysporum* наиболее информативными были SSR маркеры MB10 ($H = 0,728$, $PIC = 0,693$) и MB2 ($H = 0,514$, $PIC = 0,458$), для *F. avenaceum* (*Fa*) — *Fuz1* ($H = 0,682$, $PIC = 0,624$), для *F. roae* (*Fr*) — MB10 ($H = 0,542$, $PIC = 0,458$). Показана высокая эффективность использования микросателлитных маркеров, для изучения меж- и внутривидового полиморфизма у представителей 3-х видов рода *Fusarium*.

Ключевые слова: микросателлитные маркеры, SSR-маркеры, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium avenaceum*, *Fusarium roae*, российские изоляты грибов.

Род *Fusarium* включает в себя ряд видов, являющихся причинами различных заболеваний на ряде сельскохозяйственно значимых культур: таких, как злаковые, овощные, плодовые, декоративные и др. Одними из важных в этом плане видов являются *F. oxysporum* (*Fo*), *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. roae* (*Fr*). Наиболее распространенными являются грибы вида *F. oxysporum*, вызывающие болезни типа увядания и поражающие сосудистую систему растений [8]. *F. avenaceum* — широко распространенный вид, который может существовать, в том числе, как сапрофит, вызывает ряд вредоносных заболеваний на злаковых культурах: такие, как фузариоз колоса

и корневые гнили. *F. poae* относится к секции *Sporotrichiella* Wollenw [2] рода *Fusarium* Link (1809) и продуцируют опасные трихотеценовые микотоксины, вызывающие тяжелые заболевания людей и животных при их поступлении в организм с продуктами и кормами [5]. Многолетние исследования выявили вид *F. poae* в зерне серых хлебов и пшеницы повсеместно на территории России [3].

Чтобы выяснить молекулярные основы патогенности в роде *Fusarium*, ряд геномов представителей данного рода был секвенирован и размещен в общедоступных базах данных. Полученные при полногеномном секвенировании нуклеотидные последовательности были, в том числе, проанализированы на наличие микросателлитных последовательностей (SSR) как в кодирующих [16], так и некодирующих регионах [15] генома. SSR-маркеры являются очень полезными при исследованиях полиморфизма ввиду их высокой воспроизводимости, мультиаллельности, кодоминантного наследования и, как правило, относительно хорошего покрытия генома [18]. В связи с этим данная система молекулярных маркеров получила довольно широкое распространение для анализа внутри- и межвидового полиморфизма различных видов *Fusarium* [7, 12]. Изучение полиморфизма, основанного на генетическом разнообразии, используют для понимания путей эволюции и разнообразия различных представителей рода *Fusarium*, разработки стратегий борьбы с болезнями [15], выявление взаимосвязей между степенью патогенности того или иного штамма гриба и молекулярными маркерами. В ряде работ была показана возможность кросс-амплификации, т.е. использования SSR-маркеров, разработанных для одного вида *Fusarium* на других видах [14]. Подобный подход, во-первых, удешевляет и упрощает первичный этап разработки SSR-маркеров, специализированных для конкретного вида; во-вторых, благодаря кросс-амплификации позволяет производить сравнение различных видов между собой с использованием набора одних и тех же SSR-маркеров.

Несмотря на широкую и продуктивную работу по изучению *Fusarium* и других видов фитопатогенов, в России основными молекулярными методами, используемыми в идентификации, изучении полиморфизма, генетического расхождения различных образцов, является частичное секвенирование целевых генов или использование полилокусных маркеров (RAPD, ISSR, RFLP и др.), SSR-маркеры практически не применялись [11, 19]. В связи с этим остается открытым вопрос о возможности их применения, уровне полиморфизма, выявляемого с помощью данных маркеров на изолятах *Fusarium*, полученных на территории России.

В данной работе представлено изучение полиморфизма различных изолятов полученных из почвы и/или растений в Ростовской области трех видов *F. oxysporum* (*Fo*), *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. poae* (*Fp*) — с помощью микросателлитных маркеров.

Материалы и методы

Изоляты

Изоляты видов *F. oxysporum* (*Fo*), *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. poae* (*Fp*) (табл. 1) были получены в 2014–2015 гг. из почвы и вегетирующих растений в Ростовской области РФ: ст. Красноковская Новочеркасского района (овощной севооборот). Предварительная идентификация видовой принадлежности изолятов проводилась по морфологическим признакам. Выделение грибов в чистую культуру из семян, почвы, корней, стеблей, листьев и из различных органов растений осуществляли на пита-

тельных средах: агаризованная среда (голодный агар), картофельно-сахарозный агар, Чапека с добавлением антибиотика. Состав питательных сред готовился по пропи- сям, представленным в работах «Определитель токсинообразующих микромицетов» [1, 4]. Моноспоровые культуры получали по методикам [6] с модификациями.

Т а б л и ц а 1

Изоляты (моноспоровая культура), использованные для генетических анализов

Вид рода <i>Fusarium</i> (предварительно идентифицированный)	Число культур	Номера изолятов
<i>F. avenaceum</i>	15	121р, 122р, 130р, 131р, 148р, 156р, 164р, 8(р), 10р(2), 18р(2), 43р, 45р, 63р, 65р, 69р
<i>F. oxysporum</i>	15	10(р), 11(р), 12(р), 13(р), 142р, 150р, 157р, 159р, 6(р), 7(р) 14р(2), 34р, 35р, 46р, 51р
<i>F. Poae</i>	16	129р, 160р, 167р, 19р, 37р, 52р, 55р, 62р, 32р, 32р, 40р, 47р, 53р, 66р, 68р, 7р(2)

Выделение ДНК

Для выделения ДНК из грибов рода *Fusarium* небольшое количество мицелия (приблизительно 25 мг) 5–7-дневной культуры помещали в 1,5 мл пробирки с 50 мкл стерильной дистиллированной воды. Гомогенизировали мицелий в пробирке пестиком. Далее выделение ДНК проводили по методике, описанной С.А. Булатом с со- трудниками, имеющей некоторые модификации [2].

Микросателлитный анализ

В работе использовалось в общей сложности 8 микросателлитных маркеров, представленных в таблице 2. На видах *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. poae* (*Fp*) активная рабо- та с микросателлитными маркерами не проводилась, поэтому мы отбирали маркеры, показавшие возможность перекрестной амплификации на других видах *Fusarium* на- равне с видами, на которых они были разработаны.

ПЦР проводилась в объеме реакционной смеси 25 μ L, которая содержала бу- ферный раствор 70 mM Tris-HCl (pH 8,6), 16,6 mM сульфата аммония, 2,5 mM хло- рида магния, 0,2 mM каждого из четырех dNTP, 0,3 mM прямого и обратного прай- меров, 1,25 ед. Taq-полимеразы (Силекс) и 100 нг матричной ДНК. ПЦР проводилась в амплификаторе С1000™ Thermal Cycler (Bio-Rad). Все праймеры синтезированы в ЗАО «Синтол».

Программ амплификатора: 94°C — 5 мин., 35 циклов (92°C — 30 сек., T_{отж} °C — 30 сек., 72°C — 1 мин.), 72°C — 30 мин., хранение — 4°C.

Фрагментный анализ

Определение размеров амплифицируемых продуктов проводили на секвенаторе ABI-3130XL.

Микросателлитных маркеры, использованные в работе

Название	Праймеры	Источник	Вид на котором разработаны праймеры	Дополнительный вид	T _{отж}
Fom4	FAM CTTCGGTTGCTCGACTTTCT RATCCATGATCCCCTAAGATCG	Kumar et al., 2013	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. udum</i>	56
Fuz1	FAM GACAAGCAAGCGATAGGAAA R CTT GAT AGC ACG GAC CGA CG	GIRAUD et al., 2002	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	51
Fuz3	FAM CAT ATT CAA CCG ACC CAC AA R TTG AAT GAT AAG GGC GAC GG	GIRAUD et al., 2002	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>	53
MB10	F: FAM TATCGAGTCCGGCTTCCAGAAC R:TTGCAATTACCTCCGATACCAC	BOGALE et al., 2005	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. circinatum</i>	48
MB14	F: FAM CGTCTCTGAACCACCTTCATC R:TTCTCCGTCCATCCTGAC	BOGALE et al., 2005	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. circinatum</i>	57
MB18	F: FAM GGTAGGAAATGACGAAGCTGAC R: TGAGCACTCTAGCACTCCAAAAC	BOGALE et al., 2005	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. circinatum</i>	57
MB2	F: FAM TGCTGTGTATGGATGGATGG R:CATGGTCGATAGCTTGTCTCAG	BOGALE et al., 2005	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. circinatum</i>	57

Статистический анализ

Про обчете полученных данных все получаемые фрагменты были оценены на наличие (1) и отсутствие (0) у каждого из изолятов на каждом микросателлитном маркере и получена бинарная матрица данных. На основе бинарной матрицы производилось построение дендрограммы на основе коэффициента сходства Дайса с использованием кластерного анализа. Все вычисления и построение дендрограммы проводились в пакете программ «Past 1.81» [13].

Гетерозиготность микросателлитного локуса (H) определяется по формуле:

$$H = 1 - \sum_{i=1}^l P_i^2$$

где P_i — частота i -го аллеля среди общего числа l аллелей.

Мера, или величина, информационного полиморфизма (polymorphism information content — PIC), рассчитывалась по формуле:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^l P_i^2 - \sum_{i=1}^{l-1} \sum_{j=i+1}^l 2 P_i^2 P_j^2$$

где i — i -й аллель j -го маркера; n — число аллелей j -го маркера; P — частота аллелей; l — число аллелей; P_i и P_j — частота соответственно i -го и j -го аллеля в популяции.

Расчет величин гетерозиготности (H) и информационного полиморфизма (PIC) проводился с помощью программного обеспечения PICcalc (<http://w3.georgikon.hu/pic/english/default.aspx>) [17].

Результаты и обсуждение

В ходе исследования нами было использовано 7 микросателлитных маркеров, разработанных для видов *F. oxysporum* и *F. culmorum* на 15 изолятах *F. oxysporum* (*Fo*), 15 изолятах *F. avenaceum* (*Fa*) и 15 изолятах *F. poae* (*Fp*). В общей сложности было выявлено 33 аллеля (амплифицируемых фрагмента), в среднем 4,7 на один используемый маркер. При анализе учитывались данные амплификации только в случае наличия одного фрагмента. Наибольшее количество аллелей — 9 — было выявлено при использовании маркера MB10. В ряде случаев на отдельных изолятах амплификация отсутствовала. Но только в одном случае не удалось получить кросс-амплификацию на всех трех видах — для вида *Fp* на маркере *Fuz3* не удалось получить амплификацию ни для одного из изолятов. Отсутствие амплификации с использованием микросателлитных маркеров на отдельных изолятах или целых видах рода *Fusarium*, в случае переноса маркеров в другой вид, — довольно широко описанное явление [9, 14].

Т а б л и ц а 3

Аллели, выявленные при использовании 7 микросателлитных маркеров

Название маркера	Количество аллелей				Размер аллелей, пн			
	всего	<i>Fo</i>	<i>Fa</i>	<i>Fp</i>	всего	<i>Fo</i>	<i>Fa</i>	<i>Fp</i>
Fom4	2	1	2	1	405, 424	405	405, 424	405
Fuz1		2	4	1	127, 163, 450, 361, 90, 235, 181	90, 235	127, 163, 450, 361	181
Fuz3	2	1	1	—	137, 146	137	146	—
MB10	9	5	2	3	114, 122, 132, 164, 195, 206, 243, 247, 298	195, 164, 206, 247, 243	122, 114	132, 243, 298
MB14	4	2	1	2	198, 203, 262, 406	203, 198	406	203, 262
MB18	4	1	1	2	177, 174, 288, 600	288	600	177, 174
MB2	5	3	1	1	199, 222, 240, 270, 410	222, 240, 270,	410	199

Обращает на себя внимание то, что, хотя полностью амплификация отсутствовала лишь в случае одного маркера на одном виде, но в целом пул получаемых аллелей был различен между тремя видами и практически не перекрывался по размеру амплифицируемых фрагментов. Также для всех трех видов наиболее информативными оказывались разные маркеры. Для *F. oxysporum* наиболее информативными были SSR-маркеры MB10 (H = 0,728, PIC = 0,693) и MB2 (H = 0,514, PIC = 0,458), для *F. avenaceum* (*Fa*) — Fuz1 (H = 0,682, PIC = 0,624), для *F. poae* (*Fp*) — MB10 (H = 0,542, PIC = 0,458) (табл. 4). Подобный уровень информативности молекулярных маркеров соответствует полученному в работах других авторов на видах *Fusarium udum*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* [14]. Всего лишь 3 из 21 используемого SSR-маркера оказались высокополиморфны и хорошо подходили для оценки дивергентности внутри вида *F. Udum*, и имели показатели PIC $\geq 0,40$.

При этом ряд маркеров, хотя и различался по аллелям между тремя видами, однако внутри видов амплифицировали идентичные аллели. У *F. oxysporum* это были микросателлитные маркеры Fom4, Fuz3, MB18, у *F. avenaceum* (*Fa*) — Fuz3, MB10, MB14, MB18, MB2, у *F. poae* (*Fp*) — Fom4, Fuz1, Fuz3, MB2. Отсутствие полиморфизма внутри вида ряда маркеров, конечно, снижает потенциальные возможности изучения дивергентности изолятов друг с другом. Но при этом различие в размерах амплифицируемых фрагментов между видами открывает перспективы разработки наборов микросателлитных маркеров, которые, возможно, будут использовать при видовой идентификации образцов, принадлежащих роду *Fusarium*. Микросателлитные маркеры имеют ряд преимуществ перед используемыми в настоящее время для видовой идентификации STS-маркерами: это и воспроизводимость, и возможность использования мультиплексной реакции, и кодоминатность. Однако применение SSR-маркеров для видовой идентификации требует проведения дополнительного набора исследований — прежде всего с привлечением большего числа изолятов различного географического происхождения с точно установленной видовой принадлежностью и большего числа кросс-амплифицируемых инвариантных микросателлитных маркеров.

Т а б л и ц а 4

Информативность молекулярных маркеров

Название маркера	<i>Fo</i>		<i>Fa</i>		<i>Fp</i>	
	H	PIC	H	PIC	H	PIC
Fom4	—	—	0,164	0,150	—	—
Fuz1	0,295	0,252	0,682	0,624	—	—
Fuz3	—	—	—	—	—	—
MB10	0,728	0,693	—	—	0,542	0,458
MB14	0,375	0,305	—	—	0,241	0,212
MB18	—	—	—	—	0,226	0,201
MB2	0,514	0,458	—	—	—	—

При построении дендрограммы на основании полученных результатов, на основе коэффициента сходства Дайса все изучаемые изоляты разделились на три кластера, соответствующих их видовой принадлежности (рис. 1).

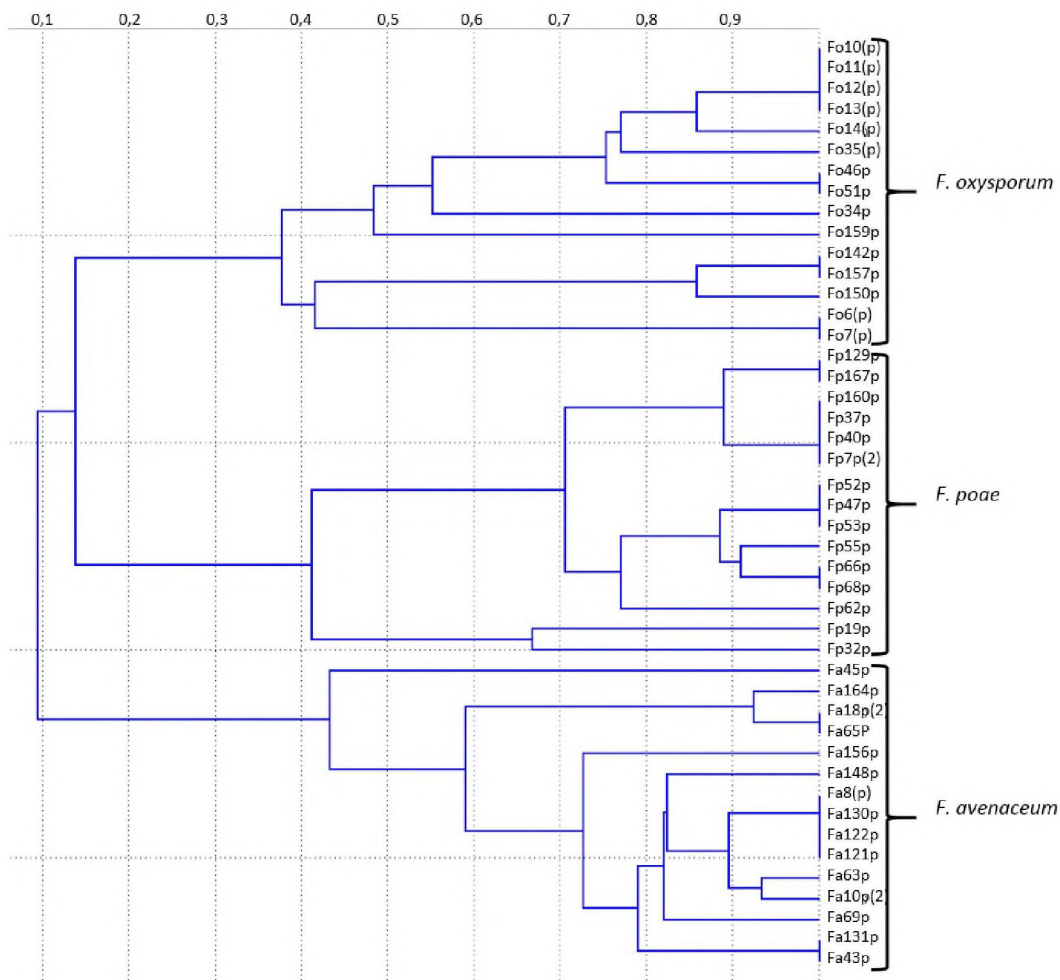


Рис. 1. Дендрограмма, основанная на результатах SSR-анализа. Коэффициент сходства рассчитывался по методу Дайса

В каждом из кластеров можно выделить подкластеры с высокой степенью дивергентности образцов. Наибольший полиморфизм наблюдался среди образцов, принадлежащих к *F. oxysporum*. Возможно, что наиболее дивергентные образцы принадлежат различным подвидам *Fo*. При этом исследования других демонстрировали различную степень дивергентности как видов, так и изолятов внутри вида. Например, уровень сходства между видами *F. udum* и *F. oxysporum*, выявляемый с помощью 21 микросателлитного маркера и рассчитанный по степени сходства Жаккарда находился на уровне коэффициента $\geq 0,6$ [14]. А изучение полиморфизма изолятов,

принадлежащих двум популяциям различных полей в *F. culmorum*, полученное с помощью всего 5 микросателлитных маркеров, рассчитанное по Ней и Ли, демонстрировало большую степень полиморфизма внутри вида ($< 0,3$) [20, 23]. В целом нами было показана высокая эффективность использования микросателлитных маркеров для изучения меж- и внутривидового полиморфизма у *F. oxysporum* (*Fo*), *F. avenaceum* (*Fa*) и *F. roseae* (*Fr*).

Библиографический список

1. Билай В.И. Фузариоз. Киев: Наукова думка. 1977. 443 с.
2. Гагаева Т.А., Гаврилова О.П., Левитин М.М., Новожилов К.В. Фузариоз зерновых культур // Приложение к журналу «Защита и карантин растений». № 5. 2011 г. 112 с.
3. Иващенко В.Г. Назаровская Л.А. Географическое распространение и особенности биоэкологии *Fusarium graminearum* Schwabe // Микология и фитопатология. 1998. Т. 32. Вып. 5. С. 1–10.
4. Соколова Л.М., Егорова А.А., Терешонкова Т.А., Алексеева К.Л. Ускоренный метод выделения в чистую культуру и характеристика грибов р. *Fusarium*, поражающих морковь столовую / Селекция и семеноводство овощных культур // Сб. науч. тр. Вып. 45. ВНИИССОК, 2014. С. 215–118.
5. Тутельян В.А., Кравченко Л.В. Микотоксины (медицинские и биологические аспекты). М.: Медицина. 1985. 320 с.
6. Хохряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов. Л.: ВИЗР, 1979. 78 с.
7. Abd-Elsalam K.A. Omar, M.R., Migueli Q., Nirenberg H.I. Genetic characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* isolates by random amplification of polymorphic DNA (RAPD) and amplified fragment length polymorphism (AFLP) // Journal of Plant Diseases and Protection 111: 2004. С. 534–544.
8. Beckman C.H. The Nature of Wilt Diseases of Plants // St Paul MN: American Phytopathological Society Press. 1987.
9. Bogale M., Wingfield B.D., Wingfield M.J., Steenkamp E.J. Simple sequence repeat markers for species in the *Fusarium oxysporum* complex // Molecular Ecology Notes 5. 2005. P. 622–624.
10. Bogale M., Wingfield B.D., Wingfield M., Steenkamp E.T. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from Ethiopia using AFLP // SSR and DNA sequence analyses. Fungal Diversity 23. 2006. P. 51–66.
11. Elansky S., Smirnov A., Dyakov Y., Dolgova A., Filippov A., Kozlovsky B., Kozlovskaya I., Russo P., Smart C., Fry W. Genotypic analysis of Russian isolates of *Phytophthora infestans* from the Moscow region, Siberia and Far East // Phytopathology. 2001. V. 149 (10). P. 605–611.
12. Groenewald S., Berga N.V.D., Marasas W.F.O., Viljoen A. The application of high-throughput AFLP's in assessing genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* // Mycological Research 110. 2006. P. 297–305.
13. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // Palaeontologia Electronica 4(1). 2001. 9 p.
14. Kumar S. Cross-species transferability of microsatellite markers from *Fusarium oxysporum* for the assessment of genetic diversity in *Fusarium udum* *Phytoparasitica* / DOI 10.1007/s12600-013-0324-y.
15. Lawson M.J., Zhang L.U. Distinct patterns of SSR distribution in the *Arabidopsis thaliana* and rice genomes // Genome Biol. 2006. V. 7. 14 p.
16. Mahfooz S., Maurya D.K., Kumar S. et al. A comparative in-silico analysis on frequency and distribution of microsatellites in coding regions of three forms of *F. oxysporum* and development of EST-SSR markers for polymorphism studies // FEMS Microbiol Lett. 2012. V. 328. P. 54–60.

17. Nagy S., Poczai P., Cernak I., Gorji A.M., Hegedus G., Taller J. PICcalc: An online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies // *Biochem. Genet.* 2012. V. 50. P. 670–672 / DOI 10.1007/s10528-012-9509-1.

18. Powell W., Morgante M., Andre C. et al. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol Breed* // 1996. V. 3. P. 225–38.

19. Stakheev A.A., Ryazantsev D.Yu., Gagkaeva T.Yu., Zavriev S.K. PCR detection of *Fusarium* fungi with similar profiles of the produced mycotoxins // *Food Control.* 2011. V. 22. P. 462–468.

COMPARATIVE ANALYSIS OF POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE MARKERS IN SEVERAL SPECIES OF *FUSARIUM*

A.N. SEMENOV¹, M.G. DIVASHUK², M.S. BAZHENOV², G.I. KARLOV²,
V.I. LEUNOV¹, A.N. KHOVRIN¹, A.A. EGOROVA¹, L.M. SOKOLOVA¹,
T.A. TERESHONKOVA¹, K.L. ALEKSEEVA¹, V.M. LEUNOVA³

(¹All-Russian Research Institute of Vegetable Crops;

²Russian Timiryazev State Agrarian University;

³Lomonosov Moscow State University)

The article presents the results of an experiment to assess the possibility of using 7 SSR markers to study levels of polymorphism, which was detected by using them in Fusarium isolates, collected in Russia. SSR markers are characterized by high reproducibility, multi allelic, codominant inheritance. The results of studies of polymorphism of 46 different isolates of the three species F. oxysporum (Fo), F. avenaceum (Fa) and F. poae (Fp), obtained from soil and/or plants in Rostov region are presented and discussed. We used markers which showed the possibility of cross-amplification in other species of Fusarium genus. The most informative markers are different for all three fungi species. For the F. oxysporum the most informative SSR markers were MB10 (N = 0,728, PIC = 0,693) and MB2 (N = 0,514, PIC = 0,458), for F. avenaceum they were (Fa) — Fuz1 (N = 0,682, PIC = 0,624), for F. poae (Fp) they were MB10 (N = 0,542, PIC = 0,458). The high efficiency of the use of microsatellite markers to study inter- and intraspecific polymorphism among representatives of 3 Fusarium species is shown.

Key words: microsatellite markers, SSR markers, F. oxysporum, F. avenaceum, F. poae, Fusarium genus, Russian fungi isolates.

Семенов Андрей Николаевич — соиск. группы корнеплодных культур центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, ФГБНУ ВНИИО Московская область, Раменский район, д. Верея стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: undreu@yandex.ru).

Дивашук Михаил Георгиевич — к. б. н., ст. науч. сотр. Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 977-72-01; e-mail: divashuk@gmail.com).

Баженов Михаил Сергеевич — к. б. н. ст. науч. сотр. Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 977-72-01; e-mail: karlovg@gmail.com).

Карлов Геннадий Ильич — д. б. н., проф., руководитель Центра молекулярной биотехнологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 977-72-01; e-mail: karlovg@gmail.com).

Леунов Владимир Иванович — д. с.-х. н., проф., гл. науч. сотр. центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская область, Раменский район, д. Веря стр. 500; тел.: (915) 245-43-82; e-mail: vileunov@mail.ru).

Ховрин Александр Николаевич — к. с.-х. н., доц., вед. науч. сотр. группы корнеплодных культур центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская обл., Раменский р-н, д. Веря, стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: hovrin@poiskseeds.ru).

Егорова Анна Анатольевна — к. с.-х. н., ст. науч. сотр. группы иммунитета и селекции пасленовых культур центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская обл., Раменский р-н, д. Веря, стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: edvaed@rambler.ru).

Соколова Любовь Михайловна — к. с.-х. н., ст. науч. сотр. группы корнеплодных культур центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская обл., Раменский р-н, д. Веря, стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: isokolova74@mail.ru).

Терешонкова Татьяна Аркадьевна — к. с.-х. н., вед. науч. сотр. группы иммунитета и селекции пасленовых культур центра селекции и семеноводства ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская обл., Раменский р-н, д. Веря, стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: tata7707@bk.ru).

Алексеева Ксения Леонидовна — д. с.-х. н., проф., вед. науч. сотр. центра защищенного грунта ФГБНУ ВНИИО (140153, Московская обл., Раменский р-н, д. Веря, стр. 500; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: alexenleon@yandex.ru).

Леунова Валентина Михайловна — к. с.-х. н., стар. науч. сотр. кафедры высших растений МГУ им. М.В. Ломоносова (119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; тел.: (496) 462-43-06; e-mail: vileunov@mail.ru).

Semenov Andrey Nikolaevich — degree-seeking student, the Group of Root Crops, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moscow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: undreu@yandex.ru).

Divashuk Michail Georgievich — PhD in Biology, a senior researcher at Center for Molecular Biotechnology, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel.: +7 (499) 977-72-01; e-mail: divashuk@gmail.com).

Bazhenov Mikhail Sergeevich — PhD in Biology, a senior researcher at Center for Molecular Biotechnology, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel.: +7 (499) 977-72-01; e-mail: e-mail: karlovg@gmail.com).

Karlov Gennadiy Ilich — Doctor of Biological Sciences, Professor; Director of the Center for Molecular Biotechnology, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; tel.: +7 (499) 977-72-01; e-mail: karlovg@gmail.com).

Leunov Vladimir Ivanovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, chief researcher of the Center of Seed Breeding and Production, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moscow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (915) 245-43-82; e-mail: vileunov@mail.ru).

Khovrin Alexander Nikolaevich — PhD in Agricultural Sciences, Associate Professor, leading researcher of the Group of Root Crops, the Center of Seed Breeding and Production, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moscow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: hovrin@poiskseeds.ru).

Egorova Anna Anatolievna — PhD in Agricultural Sciences, a senior researcher of the Group of Solanaceae crops Immunity and Breeding, the Center of Seed Breeding and Production,

All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moskow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: edvaaed@rambler.ru).

Sokolova Lubov Mikhailovna — PhD in Agricultural Sciences, senior researcher of the Group of Root Crops, the Center of Seed Breeding and Production, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moskow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: lsokolova74@mail.ru).

Tereshonkova Tatiana Arkadievna — PhD in Agricultural Sciences, leading researcher of the Group of Solanaceae crops Immunity and Breeding, the Center of Seed Breeding and Production, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moskow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: tata7707@bk.ru).

Alekseeva Kseniya Leonidovna — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, leading researcher of the Center of Indoor Planting, All-Russian Research Institute of Vegetable Crops (140153, Moskow region, Ramenskoe, d. Vereya, 500; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: alexenleon@yandex.ru).

Leunova Valentina Mikhailovna — PhD in Agricultural Sciences, senior researcher of the Department of Higher Plants, Lomonosov Moscow State University (119991, Moscow, GSP-1, Leninskie gory, 1, building 12; tel.: +7 (496) 462-43-06; e-mail: vileunov@mail.ru).