

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.Т.ТРУБИЛИНА»

На правах рукописи



Буц Алексей Валерьевич

МОЛЕКУЛЯРНО-ОРИЕНТИРОВАННАЯ СЕЛЕКЦИЯ
 ГИБРИДОВ ТОМАТА F_1 НА ОСНОВЕ МЕТОДА REAL-TIME PCR

Специальность: 06.01.05 – Селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений

Диссертация на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Научный руководитель:
доктор биол. наук, профессор
Л.В. Цаценко

Краснодар 2021

СОДЕРЖАНИЕ

	С.
ВВЕДЕНИЕ	6
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Культура томата классификация, морфологические и биологические особенности томатов	12
1.1.1. Классификация культуры томата	12
1.1.2. Морфологические и биологические особенности томата	15
1.2. Селекция томата на устойчивость к патогенам	17
1.2.1. Селекция на устойчивость к вирусным заболеваниям томата	17
1.2.2. Устойчивость к грибным болезням томата	23
1.2.3. Селекция на устойчивость к вредителям томата	29
1.2.4. Селекция на устойчивость к бактериальным заболеваниям томата	31
1.3. Селекция томата на устойчивость к мучнистой росе томата	32
1.4. Применение искусственного досвечивания при выращивании культуры томата в зимних остекленных теплицах	36
1.5. Характеристики молекулярных маркеров, используемых в селекции сельскохозяйственных культур	42
1.5.1. Характеристики ДНК-маркеров	42
1.5.2. Селекционный процесс на примере культуры томата	55
2. УСЛОВИЯ, ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ	59
2.1. Исходный материал	59
2.2. Методы исследований	64
2.2.1. Фенотипирование растений	64
2.2.2. Генотипирование растений	68
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	72
3.1. Исследование коллекции гибридов томата F ₁	72
3.2. Апробация молекулярного маркера гена устойчивости к вирусу табачной мозаики у культуры томата	83

3.3. Модель современного гибрида томата F ₁ для выращивания в зимних остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания и без него	88
3.4. Результаты исследования растений второго поколения , полученных из коллекционного материала	91
3.5. Создание новых перспективных комбинаций	95
3.6. Конкурсное сортоиспытание выделившихся селекционных комбинаций в остекленной теплице	96
3.7. Конкурсное сортоиспытание выделившихся селекционных комбинаций в условиях искусственного досвечивания (светокультуры)	99
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	110
РЕКОМЕНДАЦИИ СЕЛЕКЦИОННЫМ УЧРЕЖДЕНИЯМ И ПРОИЗВОДСТВУ	112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	113
ПРИЛОЖЕНИЕ	135

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВОМ – вирус огуречной мозаики;

ВМТ – вирус мозаики томата;

ВНИИМК – Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур;

ВТМ – вирус табачной мозаики;

ДНК (*DNA*) – дезоксирибонуклеиновая кислота;

МОС (*MAS*) – маркер-ориентированная селекция (*Marker-Assisted Selection*);

ООО «НИИОЗГ» - Научно-исследовательский институт овощеводства защищенного грунта;

ООО «НИИСОК» - Научно-исследовательский институт селекции овощных культур;

ПЦР (*PCR*) – полимеразная цепная реакция;

ПЦР-анализ – метод анализа на основе полимеразной цепной реакции;

AFLP - полиморфизм длин амплифицированных фрагментов ДНК (*Amplification Fragment Length Polymorphism*);

CAPS - полиморфизм рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*);

Cf (Ff) - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к бурой пятнистости;

DArT - ДНК- чиповая технология для изучения генетического разнообразия (*Diversity Array Technology*);

I - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к фузариозному увяданию;

ISSR – межмикросателлитные последовательности (*Inter Simple Sequence Repeats*);

Mi - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к галловой нематоде;

Ol (On) - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к настоящей мучнистой росе;

QTL – локусы количественных признаков (*Quantitative Trait Loci*)

RAPD - случайно амплифицированная полиморфная ДНК (*Random Amplified Polymorphic DNA*);

Real-Time PCR – метод ПЦР в реальном времени;

RFLP - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (*Restriction Fragment Length Polymorphism*);

SNP - однонуклеотидный полиморфизм (*Single Nucleotide Polymorphism*);

SSR - простые повторяющиеся последовательности (*микросателлиты*) (*Simple Sequence Repeats*);

Sw - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к расам вируса бронзовости томата;

Tm – обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к расам вируса табачной мозаики;

TSVW – вирус бронзовости томата;

Ty – обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к расам вируса желтого скручивания листьев томата;

TYLCV - вирус желтого скручивания листьев томата;

Ve - обозначение генов томата, дающих растению устойчивость к вертициллезному увяданию.

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшей составляющей полноценного питания человека являются овощи. На сегодняшний день их принято рассматривать как функциональный продукт питания, который обеспечивает поддержку жизненных сил человека, а народная и научная медициной признают их действенными лечебными средствами. Томат и огурец считаются одними из часто употребляемых овощей в пищу. Томат стал одной из самых распространенных культур в России за счет хороших вкусовых качеств, высокой продуктивности и многообразию использования. Р.А Гиш (2018) приводит данные, что в 1 кг томатов содержится: витамина С – 250-300 мг; β -каротина – 15-17 мг; витамина В₁ – 1-1,2 мг; витамина В₂ – 0,5-0,6 мг; витамина РР – 4,1-4,5 мг; ликопина – 30-35 мг; витамина В₉ – 0,75 мг; витамина Н – 0,04 мг. Плоды обладают фитонцидными свойствами. В связи с потребностью человека в круглогодичном потреблении овощей, стало целесообразным выращивать их в защищенном грунте.

Поступление овощей из теплиц фактически отсутствует в зимние месяцы (декабрь-январь), только выращивание в условиях искусственного освещения (светокультура) способствует получению овощной продукции в этот период. К тому же, зимние месяцы являются самыми затратными по использованию энергоносителей (Кудряшова Л.В., Кибардина О.Э., 2020).

Свет для жизни растений является незаменимый фактор роста и развития растений. В работах ряда исследователей доказали, что урожай находится в прямо-пропорциональной зависимости от количества света, поглощенного культурой.

За последние годы наблюдается процесс активного роста и развития защищенного грунта России. Площадь теплиц в нашей стране, за период 2014 – 2019 годы, выросла на 1300 га и практически во всех этих новых культивационных сооружениях растения выращивают в условиях светокультуры. По итогам 2020 года в стране ввод новых и модернизированных площадей зимних теплиц составил порядка 220 га, благодаря чему общая площадь зимних теплиц достигла 3 000 га.

Площадь современных теплиц, с выращиванием растений в условиях светокультуры, продолжает увеличиваться и на конец 2020 года достигла

около 1450 га, что составляет уже более 48 % от всех площадей зимних теплиц России. При этом рост площадей теплиц со светокультурой происходит не только за счет строительства новых, но и вследствие модернизации ранее построенных современных теплиц. Ведутся государственные программы, по которым планируется до 2023 года ввести в эксплуатацию еще порядка 600 га новых теплиц с выращиванием растений в условиях светокультуры. Таким образом. Общая площадь теплиц с искусственным освещением в ближайшее время может достигнуть 2 000 га. Учитывая, что средняя урожайность овощных культур около 100 кг/м². производство свежей овощной продукции, в условиях светокультуры, к этому времени может достигнуть 2 млн. тонн. В сравнении, что средняя урожайность тепличных комплексов без искусственного досвечивания, по итогам 2020 года, составила всего 47,2 кг/м², что выше на 9 % показателей 2019 года.

Актуальность исследования. Актуальной проблемой селекции томата для защищенного грунта является создание универсальных сортов и гибридов, сочетающих высокую урожайность и хорошее качество плодов с групповой устойчивостью к ряду болезней и вредителей.

Создание сортов и гибридов в растениеводстве – творческий, наукоёмкий и длительный процесс. Разработаны классические схемы селекционного процесса по созданию гетерозисных гибридов томата, направления и методы селекции [Жученко, 1973; Авдеев, 1983; Огнев и др., 2016]. Однако жизнь не стоит на месте, внося коррективы в цели и задачи работы, предоставляя новые усовершенствованные методики, оборудование и материалы. В основе классической селекции растений лежит естественная генетическая изменчивость, которая может быть отслежена и использована как методами классического анализа (селекция на инфекционных фонах и т.п.), так и с использованием методов молекулярного анализа-методами маркер-ориентированной селекции. В селекционной практике одним из важнейших является этап создания исходного материала, который ляжет в основу всех будущих сортов и гибридов. Исходный материал – это источник, из которого селекционер черпает необходимые ресурсы для наполнения и корректировки селекционных программ. Как на этом этапе, так и на этапах

последующих питомников необходимо отслеживать наличие генов устойчивости для создания коллекции источников и доноров этих генов для создания коммерческих гетерозисных гибридов. В последние десятилетия шло бурное развитие молекулярных методов анализа, в том числе и в селекции растений. В основном усилиями зарубежных исследователей разработано направление маркер-ориентированной селекции, которая получила широкое распространение в практике большинства селекционных центров. Испытывая те или иные приемы и методики, селекционеры отбирают для себя наиболее удобные и эффективные, позволяющие оптимизировать работу и ускорить достижение поставленных целей.

В современных условиях высокой конкуренции между отечественными и зарубежными транснациональными селекционно-семеноводческими компаниями, а также активного распространения новых болезней, спровоцированного расширением международной торговли семенами, от селекционеров требуются усилия по своевременному мониторингу изменяющихся требований к качеству гибридов томата. Необходимо вовремя отслеживать новые заболевания и мировой уровень селекционной работы с ними, вовлекать новые методы и достижения селекции в собственные селекционные программы. В работе по точной идентификации возбудителей болезней неоценимыми являются методы ПЦР-идентификации патогенов.

Цель и задачи исследования. Цель настоящего исследования заключалась в изучении использования метода Real-Time PCR, как инструмента, для ускорения селекционного процесса гибридов томата F_1 для зимних остекленных теплиц.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

1. С помощью молекулярного маркирования провести генетический анализ коллекционных гибридов томата F_1 ;
2. Провести визуальную оценку фенологических и биометрических параметров коллекционных образцов томата F_1 ;
3. Разработать модель современного гибрида томата F_1 для выращивания в зимних остекленных теплицах, а также для выращивания в условиях искусственного досвечивания;

4. На основании генетической и фенотипической оценки получить новый линейный материал и на его основе получить новые гибриды томата F_1 ;
5. Провести конкурсное сортоиспытание полученных гибридов томата F_1 в остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания и без него.

Научная новизна работы. В настоящей работе исследована коллекция гибридов томата для выращивания в остекленных теплицах с генетической устойчивостью к мучнистой росе. Разработана модель современного гибрида томата для выращивания в зимних остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания и без него. Получен линейный материал томата, обладающий в своем генотипе комплексом генов устойчивостей к основным заболеваниям, а также обладающий высокими сельскохозяйственными показателями. Созданы гибриды первого поколения томата с толерантностью к мучнистой росе, способные конкурировать с гибридами иностранной селекции. В ходе исследований впервые отработана методика массового выделения ДНК из растений томата. Установлено, что генетическая оценка методом ПЦР-анализа в реальном времени с использованием молекулярных маркеров, позволяет быстро и точно определить наличие и аллельное состояние генов устойчивостей у растений томата.

Теоретическая и практическая ценность работы.

Использованный метод выделения ДНК из растительных клеток, а также ПЦР-анализа генотипа растений с использованием молекулярных маркеров предложен для использования на культуре томата и других овощных культурах. Полученные линии могут использоваться в качестве исходного материала в селекционном процессе томата. Маркер-ориентированную селекцию необходимо использовать для создания в короткие сроки новых гибридов и сортов томата с комплексом устойчивостей. Кроме того, полученный линейный материал с устойчивостью к мучнистой росе будет использован для создания молекулярного маркера, идентифицирующего ген устойчивости к настоящей мучнистой росе томата.

Методы исследований. В работе проводили генетический анализ растений с помощью метода Real-Time PCR (выделение растительной ДНК, ПЦР-анализ проводился на амплификаторах LightCycler 480 II, с использованием флуоресцентных зондов). Визуальную оценку исходного материала проводили согласно «Методическим указаниям по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта» (Москва, 1986) и «Методическим указаниям ВИР по изучению и поддержанию мировой коллекции овощных пасленовых культур (томат, баклажаны, перцы)» (ВИР, 1977). Заражение растений возбудителем мучнистой росы томата *Oidium lycopersici* проводили методом опрыскивания суспензией спор. Конкурсное сортоиспытание проводили согласно рекомендациям ГОСТа в зимних остекленных теплицах, оборудованных лампами ДНАЗ-600, для создания благоприятного светового режима.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Генетическая оценка гибридов томата F_1 показала, что современные гибриды томата F_1 имеют в своих генотипах гены устойчивости к вирусу табачной мозаики, фузариозному увяданию и вертициллезу, во многих гибридах так же присутствует ген устойчивости к бурой пятнистости томата.

2. В ходе изучения коллекционных гибридов томата F_1 была разработана современная модель гибрида томата F_1 для выращивания в зимних остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания и без него.

3. Молекулярно-генетический анализ поколения F_2 подтвердил результаты искусственного заражения растений, проведенный на гибридах первого поколения. Расщепление в образцах всех генов устойчивостей, которые были диагностированы в гетерозиготном состоянии, стремилось к пропорции 1:2:1.

Личный вклад соискателя. Совместно с научным руководителем выбрана тема и разработана структура диссертации, проведено планирование экспериментов, подготовлены публикации. Автор самостоятельно проанализировал состояние исследуемой проблемы, выполнил эксперименты,

провел статистическую обработку, анализ и обобщение экспериментальных данных, сделал аргументированные выводы.

Степень достоверности и апробация результатов исследования подтверждаются значительным объемом полученных экспериментальных данных, накопленных в результате многолетних исследований, выполненных с применением современных методов и положительными результатами апробации. Результаты работы были представлены на 6 российских и международных конференциях, среди которых: Международная научно-практическая конференция, посвященная 130-летию Н.И. Вавилова (Москва, 2017), научная конференция «Инновационные методы селекции овощных культур» (Крымск, 2017), X Всероссийская конференция молодых ученых, посвященной 120-летию И. С. Косенко (Краснодар, 2016), 73-й научно-практическая конференция преподавателей (Краснодар, 2018), IX Международной научно-практической конференции «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» (Владикавказ, 2019).

Публикации. По материалам научной работы опубликовано 8 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах, входящих в список ВАК, 4 тезисов научных конференций. Получены патенты на гибриды томата первого поколения Аркаим, Крещендо.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, заключения, списка литературы, рекомендаций производству и приложения. Материал работы изложен на 140 страницах печатного текста, включая 26 таблиц и 14 рисунков. Список цитированной литературы содержит 203 источников, в том числе 87 источников иностранной литературы.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Культура томата, классификация, морфологические и биологические особенности томатов.

1.1.1 Классификация культуры томата

На Первые таксономические группы томата основывались на морфологических характеристиках растений. В связи с тем, что ученые закладывали различные признаки при делении видов томата, единой мировой систематики нет до сих пор. Как в Российской Федерации, так и во всем мире известны несколько классификаций культуры томата.

В англоязычных странах наиболее часто используют классификации, предложенные С. Мюллером (С. Muller) и Л. Люквиллом (L. Luckwill). Первые фундаментальные различия между однолетними и многолетними растениями рода *Lycopersicon* в своих работах отразил С. Мюллер (1940). Он разделил томата на 2 подрода: первый включал в себя два вида *L. esculentum* Mull. (культурный), *L. pimpinellifolium* (Jusl.) Mull. (смородиновидный) и получил название *Eulycopersicon* С. Н. Mull.; второй подрод автор назвал *Eriopersicon* С. Н. Mull., сюда были включены виды *L. hirsutum* Humb. Et Bonpl. (волосистый), *L. peruvianum* Mull. (перуанский), *L. Chilense* Dun. (чилийский), *L. minutum* (маленький). Разделение Мюллера основывалось на различной окраске плодов, плоды первого рода могли быть желтой, красной или оранжевой окраски, а вот плоды второго рода были зеленого цвета. [Цит. по: Жученко, 1980; Бексеев, 1995].

Позднее другой ученый Л. Люквилл (1943) выступил в поддержку ранее предложенной классификации томата. По его мнению, во время эволюционного процесса из примитивной формы томата появились две филогенетические линии, различающиеся между собой цветом плодов. Плоды первого подрода *Eulycopersicon* С. Н. Mull. были пигментированы содержащимися каротиноидами, а растения были приспособлены к различной продолжительности светового дня. Развитие фазы цветения и завязи плодов у второго подрода *Eriopersicon* С. Н. Mull. было возможным только при коротком световом дне, а плоды были зеленой окраски из-за высокого содержания хлорофилла, также Л.Люквилл дополнил эту группу новым видом *L. Pissisi* Phil. [Цит. по: Жученко, 1980].

Немецкие исследователи придерживались классификаций, описанных С. Леманном (С. Lehmann) и И. Беккер-Диллингеном (J. Becker-Dillingen). Хотя К. Леманн (1953, 1955, 1959) был согласен с систематикой, предложенной Люквиллом, он не делил род *Lycopersicon* на подроды, а просто относил виды *L. esculentum* Mill. - культурный томат; *L. pimpinellifolium* (Jusl.) Mill. - американский смородиновидный томат; *L. peruvianum* (L.) Mill. - перуанский томат (или дикий); *L. hirsutum* Humb et Bonpl. - волосистый томат; *L. glandulosum* C. H. Mill. - железистый томат к роду томата. [Lehmann, 1955]

И. Беккер- Диллингеном (1956) выдвинул классификацию, которая включала в себя семь видов томата, а при этом культурный томата был разделен на несколько разновидностей [Becker-Dillingen, 1956].

В советском союзе использовали классификацию томата, которая была предложена академиком Д.Д. Брежневым. Наш соотечественник описал род *Lycopersicon* Tom, который включал в себя три вида: *L. peruvianum* Mill., *L. hirsutum* Humb. et Bonpl. и *L. esculentum* Mill. [Брежнев, 1974]. Многие ученые используют данную классификацию и по сей день.

За последние десятилетия исследователи выявили, что существенные морфологические изменения у растений контролируются определенными генами и благодаря интенсивному развитию молекулярных методов исследований, эти гены удалось выявить. Данные полученные при молекулярных исследованиях по структуре хлоропластных и рибосомальных генов были переработаны с использованием кладистических методов, это позволит пересмотреть всю систематику растений. [Багирова и др., 2009]

В 2004 году был запущен проект, направленный на секвенирование генома томата и создание базы данных, которая бы соответствовала ему. Проект получил название Boyce Thompson Institute for Plant Research и сыграл важную роль в описании новой современной классификации. Американское общество таксономистов в 2008 году передала в публичное пользование монографию «*Solanum* sect. *Lycopersicon*», в которой учитывался филогенетический подход. [Peralta, 2008]. Используя современный подход, исследователями были разделены сложный комплексные виды на несколько подвидов, которые включали географические разновидности. Число видов в современной классификации

выросло благодаря этим исследованиям и насчитывает 17 видов томата. (табл. 1)

Таблица 1 - Эквивалентные названия различных видов томата [Игнатова, 2009]

№	Новое название	<i>Lycopersicon</i> эквивалент
1.	<i>Solanum juglandifolium</i> Dunal	<i>Lycopersicon juglandifolium</i> (Dunal) J.M.H. Shaw
2.	<i>Solanum ochranthum</i> Dunal	<i>Lycopersicon ochranthum</i> (Dunal) J.M.H. Shaw
3.	<i>Solanum sitiens</i> I.M. Johnst.	<i>Lycopersicon sitiens</i> (I.M. Johnst.) J.M.H. Shaw
4.	<i>Solanum lycopersicoides</i> Dunal	<i>Lycopersicon lycopersicoides</i> (Dunal in DC.) A. Child ex I.M.H. Shaw
5.	<i>Solanum pennellii</i> Correll	<i>Lycopersicon pennellii</i> (Correll) D'Arcy
6.	<i>Solanum habrochaetes</i> S. Knapp & D.M. Spooner	<i>Lycopersicon hirsutum</i> Dunal
7.	<i>Solanum</i> 'Nperuvianum' описано Peralta	Часть <i>Lycopersicon peruvianum</i> (L.) Miller (incl. var <i>humifusum</i> and <i>Marathon</i> races)
8.	<i>Solanum</i> 'Callejon de Huaylas' описано Peralta	Часть <i>Lycopersicon peruvianum</i> (L.) Miller (from Ancash along Rio Santa)
9.	<i>Solanum neorickii</i> D.M. Spooner, G.J. Anderson & R.K. Jansen	<i>Lycopersicon parviflorum</i> C.M. Rick, Kesicki, Fobes & M. Holle
10.	<i>Solanum chmielewskii</i> (C.M. Rick, Kesicki, Fobes & M. Holle) D.M. Spooner, G.J. Anderson & R.K. Jansen	<i>Lycopersicon chmeilewskii</i> C.M. Rick, Kesicki, Fobes & M. Holle
11.	<i>Solanum corneliomuellieri</i> J.F. Macbr.	Часть <i>Lycopersicon peruvianum</i> (L.) Miller; также известный как <i>Lycopersicon glandulosum</i> C.F. Mull
12.	<i>Solanum peruvianum</i> L.	<i>Lycopersicon peruvianum</i> (L.) Miller
13.	<i>Solanum chilense</i> (Dunal) Reiche	<i>Lycopersicon chilense</i> Dunal
14.	<i>Solanum cheesmaniae</i> (L. Riley) Fosberg	<i>Lycopersicon cheesmaniae</i> L. Riley (опубликован как <i>cheesmanii</i>)
15.	<i>Solanum galapagense</i> S. Darwin & Peralta	Часть <i>Lycopersicon cheesmaniae</i> L. Riley
16.	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	<i>Lycopersicon esculentum</i> Miller
17.	<i>Solanum pimpinellifolium</i> L.	<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> (L.) Miller

Филогенетические исследования установили, что род *Lycopersicon* Tourn. близок к *Tuberarium* рода *Solanum* L., в связи с чем предложенная классификация оказалась очень спорной. Многие ученые отмечают, что растения указанных таксонометрических категорий имеют одинаковые морфологические признаки. Так же установлено, что у рода *Eriopersicon* и диплоидных видов картофеля имеется сходство в соматических хромосомах. [Нековаль, 2011; Нековаль и др., 2015]

Таким образом современная филогенетическая классификация не смогла отразить все особенности рода *Lycopersicon* Tourn, и не является общепринятой в Российской Федерации, в связи с чем автор вовремя исследования придерживался классификации, предложенной Д.Д. Брежневым.

1.1.2 Морфологические и биологические особенности томата

О пластичности культуры томата писал Жученко (1973), отличительными характеристиками является короткий вегетационный период в совокупности с простым вегетативным и генеративным размножением, которые позволяют выращивать томат как многолетнюю культуру. Но в России томаты выращивают как однолетние из-за климатических условий. На основании различных сроков созревания сорта томата разделили на раннеспелые, среднеспелые и поздние [Брежнев, 1955; Велика, 1976].

Наиболее часто в литературе встречается описание семян томата как почковидные, плоские, серовато-желтой окраски, возможно опушение. 1000 семян весят в среднем 3-4 грамма, всхожесть сохраняется от 5 до 7 лет в зависимости от условий хранения (необходима температура воздуха +14-16 градусов и влажность от 75% и выше). Есть упоминания, что семена прорастали на десятый и даже двадцатый год хранения. [Ткаченко, 1963; Октябрьская, 2004].

Корневая система может варьировать в своем развитии в зависимости от условий выращивания и сорта или гибрида: при комфортных условиях у индетерминантных сортов длина корней может достигать 1,5-2,5 м в диаметре, а также корни могут залегать на глубину от 1 до 1,5 метров. В условиях защищенного грунта расположение корневой системы достигает 0,2-0,4 м.

Отличительной чертой томата является возникновение придаточных корней при повышенной влажности почвы и воздуха. Такая особенность ускоряет вегетативное размножение, так как пасынки легко укореняются. [Гаранько и др., 1989; Гавриш, 2003].

В зависимости от продолжительности роста стеблей томат подразделяют на две группы: индетерминантную (с неограниченным ростом) и детерминантную (с ограниченным ростом стеблей) [Пивоваров, 2002; Гавриш, 2005]. Стебель томата округлый, голый или покрыт железистыми волосками, прямостоячий, с временем полегает, в период плодоношения становится грубым и одревесневает. Высота его варьирует от 30 см до 3 м и более [Алпатьев, 1981; Октябрьская, 2004; Гавриш, 2005]. Ветвление побегов у томата симподиальное, то есть после образования первого соцветия над 6-9

листом рост продолжается за счет бокового побега, который появляется из пазухи самого верхнего листа. При росте этого побега наблюдается смещение соцветия в сторону, а лист, в пазухе которого он заложился, выносится выше соцветия [Брежнев, 1964; Гавриш, 2003]. После образования у побега трех листьев формируется соцветие, и его рост прекращается. Из пазухи листа, расположенного под этим соцветием, опять появляется побег продолжения с тремя листьями и т. д. Таким образом, рост растения продолжается непрерывно (индетерминантный тип роста). На практике эту совокупность побегов, образующихся в процессе симподиального ветвления, принято называть основным, главным стеблем [Нестерович, 2007].

Ввиду того, что томат относится к Пасленовым, на растениях может встречаться лист картофельного типа, но в большинстве случаев листья очередные, одно или двоякоперисто-рассеченные. Окраска листа может отличаться в зависимости от скопления хлорофилла от светло-зеленого до темно-зеленого. Поверхность может быть как морщинистой так и гладкой с большим скоплением мелких волосков на ней, что придает различную степень опушенности листа. [Скворцова, 2003].

Томат является самоопылителем, в цветках имеются как тычинки, так и завязь, небольшие, собранные в кисть (соцветие-завиток). Исследователи описывали формы с 200 и более цветками в одном соцветии. [Ткаченко, 1963; Гавриш, 2005; Пивоваров, 2007].

Отмечается, что до начала цветения от всходов проходит около 50-60 дней. При выращивании индетерминантных сортов и формировании растений в один главный стебель, возможно цветение до 3 соцветий одновременно. Формирование цветков происходит по вертикали вверх. Цветение супердетерминантных и детерминантных сортов происходит дружнее, вследствие более частого расположения соцветий. Раскрывание цветков на соцветии также имеет вертикальный характер, первыми открываются цветки, расположенные ближе к стеблю, затем все остальные в течение от пяти до пятнадцати дней. [Гаранько и др., 1989; Бексеев, 2006].

Цветки томата самоопыляющиеся. Однако при высокой влажности воздуха пыльцевые зерна набухают, слипаются, и опыления цветков почти не происходит. Часто у томата (у крупноплодных сортов) встречаются фасциированные цветки, из которых впоследствии образуются

многокамерные, ребристые и часто деформированные плоды. Одновременно цветут два - четыре цветка, каждый из них бывает раскрыт в среднем три-четыре дня. Затем окраска его бледнеет, и лепестки увядают. В сухую жаркую погоду этот срок сокращается до двух дней, а в пасмурную и холодную он увеличивается до пяти - семи дней и более [Король, 1989].

После оплодотворения семяпочек начинается рост завязи. Завязь у томата верхняя, с различным числом гнезд. От цветения до созревания плодов проходит 45-60 дней [Скворцова, 2003].

1.2 Селекция томата на устойчивость к патогенам

Современный культурный томат поражается около 100 различными патогенами. Цитируя С.Ф. Гавриш (2018), в современном селекционном процессе используется линейный материал, устойчивый к 7 заболеваниям, а целью селекционеров является создание гибридов первого поколения с генетической устойчивостью к 9-10 патогенам. Большое количество генов устойчивостей приводят к комплексной устойчивости растений (multiple resistance). Выращивание сортов и гибридов с комплексной устойчивостью в промышленных объемах сможет позволить сократить количество защитных мероприятий от патогенов.

Актуальной задачей остается поиск доноров устойчивостей, изучение их генетических особенностей, создание исходного материала и использование его в гибридизации. Наиболее привлекательными в изучении устойчивых форм являются дикие виды томата, а также полукультурные разновидности, в их изучении используют методы молекулярного маркирования. [Асланян, Айрапетова, 2000; Емелина, Горшкова, и др. 2010]

1.2.1 Селекция на устойчивость к вирусным заболеваниям томата

Вирусные болезни становятся лимитирующим фактором производства томата. Их вредоносность возрастает за счет освоения возбудителями новых ареалов в связи с активной международной деятельностью в растениеводстве и изменениями климата [Ахатов, 2012]. Активная международная деятельность (семеноводство, торговля семенным и посадочным материалом и т.п.), уязвимые места в системе карантина - способствуют распространению новых для России вирусов.

Примером тому служат вирус желтого скручивания листьев томата (TYLCV), распространившийся в тепличной культуре томата в северном Китае, а также вирусы бронзовости и мозаики пегино, широко распространившиеся по Европе и наращивающие вредоносность в Центральном регионе РФ, в том числе в Нечерноземье [Монахос, 2014, Терешонкова, 2014].

В настоящее время на томате зарегистрировано более 36 вирусов из 12 семейств. В России на томате широко распространились вирусы: табачной мозаики (BTM) – *Tobacco mosaic virus* (TMV), мозаики томата (BMT_o) – *Tomato mosaic virus* (ToMV), огуречной мозаики (BOM) – *Cucumber mosaic virus* (CMV), мозаики пегино (PepMV) – *Pepino mosaic virus*, бронзовости томата (BBT) – *Tomato spotted wilt virus* (TSVW), простой и двойной стрик (TMV + PVX (*Potato virus X* or *CMV*)) аспермии томата (BAT) – *Tomato aspermy virus* (TAV) и др. [Ахатов, 2012].

Один из основных факторов, который ограничивает урожайность томата – вирус табачной мозаики. Потери урожая при заражении BTM могут достигать 60 - 80% [Гавриш, 1986]. Основной возбудитель – вирус табачной мозаики (*Nicotianavirus 1* Smith) (BTM). BTM обладает высоко контагиозным характером, то есть в процессе пикировки, посадки растений в грунт или в процессе ухода растений может передаваться путем контакта от больных растений в здоровые [Юлдашов, 1989].

BTM на растениях томата вызывает в основном мозаику и передается от растений к растениям трипсами, белокрылками и тлей. Симптомы заболевания проявляются в виде пятен на листьях, стеблях и плодах. Генетика устойчивости томата к BTM хорошо изучена [Авдеев, 1982]. BTM в сочетании с другими вирусами (вирус огуречной мозаики (BOM), X-вирус картофеля (ХВК)) вызывают другое опасное заболевание – стрик, выражающийся в появлении некротических пятен и полос на стебле, листьях и плодах [Самсонова, 2001].

У томата имеется три гена двух типов устойчивости: *Tm-1* – толерантность, *Tm-2* и *Tm-2a* (*Tm-2.2*) – сверхчувствительность [Игнатова, 2011]. Все указанные гены эффективны в доминантном состоянии. В отличие от генов *Tm-2* и *Tm-2.2*, ген *Tm-1* способен экспрессироваться и в протопластах [Motoyoshi, 1998].

Известно, что ген *Tm-1*, локализованный на хромосоме 5, был идентифицирован из *S. hirsutum*, а ген *Tm-2*, локализованный на хромосоме 9, был выявлен у *S. peruvianum*. Эти гены интрогрессировали в культурный томат. Ген *Tm-1* обеспечивает устойчивость томата к ВТМ на клеточном уровне, а гены *Tm-2* и *Tm-2a* придают устойчивость на тканевом уровне (при передвижении вируса от клетки к клетке по плазмалеммам) [Lanfemeijer, 2003].

Ген *Tm-1* не дает полную устойчивость томата к ВТМ, и поэтому надо сочетать в одном сорте или гибриде различные гены устойчивости. По данным В.А. Пухальского (2007) наилучший результат наблюдается при сочетании трех генов *Tm-2*, *Tm-2.2* и *Tm-1* в гетерозиготном или гомозиготном состоянии. Он отметил, что генотипы *Tm-2²Tm-2²Tm-1+*, *Tm-2²Tm-2²Tm-1Tm-1* и *Tm-2²+Tm-1+* обеспечивают полную устойчивость ко всем распространенным штаммам ВТМ в России. В гетерозиготном состоянии более сильны гены *Tm-2* и *Tm-2.2* при условии повышенной температуры и инсоляции, при наличии большого количества инфекции [Игнатова, 2011]. То есть применение комбинаций с двумя генами *Tm-2* и *Tm-2.2* в различных сочетаниях (гомозигота и гетерозигота) позволяет повысить и стабилизировать устойчивость F1 гибридов к ВТМ [Motoyoshi, 1998].

Ф.С. Lanfermeijer с авторами (2003) сообщают, что аллели *Tm-2* и *Tm-2a* обеспечивают более длительную защиту от ВТМ, чем ген *Tm-1*. Но В.С.П. Кумари и другие ученые (2007) установили, что при низких температурах устойчивость, обеспеченная геном *Tm-1*, более длительна, чем устойчивость, обеспеченная геном *Tm-2a*.

Реакция растения томата на заражение вирусом зависит не только от генетики хозяина (наличия или отсутствия генов *Tm*), но и от генотипа вируса. Заражение одного и того же растения томата различными штаммами вируса может вызывать разные симптомы: от резкого хлороза до практически полного отсутствия каких бы то ни было признаков заболевания [Пухальский, 2007].

Заболевание томатов, вызываемое вирусом желтой (хлоротической) курчавости листьев томата (англ. *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV)) на сегодняшний день занимает третье место в мире среди экономически значимых вирусных патогенов [Scholthof, 2011]. Вирус относится к роду

ДНК-содержащих бегомовирусов (*Begomovirus*), семейство Джеменивирусов, инфекция не передается механически, семенами и почвой, но переносится белокрылками *Trialeurodes*. В связи со значительным экономическим ущербом, наносимым данной вирусной инфекцией, ведется интенсивный поиск генов устойчивости к TYLCV у томатов. В настоящее время известно шесть основных генов устойчивости к TYLCV у томата. Все они были интрогрессированы в геном культурного томата от дикорастущих видов *Solanaceae*.

Доминантный ген *Ty-1* был передан от образцов LA1932, LA2779, LA1938 *S. Chilense*. Он расположен в 6 хромосоме и тесно сцеплен с маркером TG 118, к тому же, в той же хромосоме был выделен и картирован большой локус, отвечающий за устойчивость. Также из линии LA2779 был передан ген *Ty-3*, предположительно способствующий также устойчивости к ToMoV и другим бегомовирусам [Ji, 2007]. Данный ген расположен на длинном плече хромосомы 6, рядом с маркерами cLED-31-P16 и T1079 [Ji, 2006].

Н. Pereira da Costa совместно с другими испанскими учеными проводили испытания различных линий томата, содержащих в гомозиготе и гетрозиготе гены устойчивости к TYLCV [Pereira de Costa, 2010].

В свою очередь Assaf Eybishtz ведет работу по выявлению новых генов устойчивости к TYLCV, находящихся в *S. chilense*, *S. peruvianum* и *S. Habrochittes* [Assaf Eybishtz, 2011].

Главным направлением в работах зарубежных ученых по получению устойчивых к TYLCV и ToMoV томатов является передача *L. esculentum* генов устойчивости от диких видов и их маркирование.

В 2013 Verlaan с соавторами клонировали гены *Ty-1* и *Ty-3* и убедительно показали, что данные гены аллельны. В ходе исследований было установлено, что наиболее вероятным кандидатом на роль белкового продукта данных генов является фермент РНК-зависимая - РНК-полимераза (РДР), принадлежащая к типу RDR γ . Данный фермент имеет нетипичный DFDGD мотив в каталитическом домене, отличный от каталитического DLDGD мотива фермента типа RDR α . Функции этого фермента до сих пор не были описаны, и, таким образом гены *Ty-1* и *Ty-3* представляет собой совершенно новый класс генов устойчивости [Verlaan, 2013].

РНК-зависимая РНК-полимераза — фермент, принимающий участие в процессе РНК-интерференции, играющем важную роль в системе иммунного ответа растительной клетки при заражении вирусами. Авторы предполагают, что механизм действия данного гена включает в себя амплификацию синтеза микроРНК, принимающих участие в деградации мРНК джемини-вируса в зараженной клетке-хозяине. Кроме того, вполне возможно, что RDRγ может принимать участие в образовании специальных молекул РНК, которые могут напрямую метилировать ДНК, вызывая таким образом подавление экспрессии вирусной ДНК.

Важнейшую роль в обеспечении устойчивости культурного томата к TYLCV играет также ген *Ty-2*. Данный ген находится на длинном плече 11 хромосомы между маркерами UP8 (51,344 МБ) и M1 (51,645 МБ) и был передан из линии *S. habrochaites F. glabratum* «Н24». Найдены маркеры, тесно связанные с локусом *Ty-2*, рекомендуется использовать их в селекционных программах [Hanson, 2006].

Поскольку гены *Ty-1*, *Ty-3* и *Ty-2* являются доминантными, ученые массово используют их в селекционных программах для передачи устойчивости культурному томату к данному заболеванию. Однако появляются сведения о преодолении устойчивости данных генов новыми расами вируса. Для решения этой проблемы некоторыми авторами предлагается совмещение в одном геноме генов *Ty-2* и *Ty-3*, как оптимальной защитной стратегии [Mejia, 2010].

Работы по поиску новых генов устойчивости к вирусу желтого скручивания листьев у диких сородичей культурного томата продолжаются.

Ген *Ty-4* был также интрогрессирован в геном культурного томата от образца *S. chilense* и картирован в 3 хромосоме, вероятно он дает неполную устойчивость к вирусу [Ji, 2007].

Ген *Ty-5* передан от *S. peruvianum* и картирован в 4 хромосоме. Из *S. chilense* был выделен еще один ген - *Ty-6*, работы по картированию, которого еще ведутся; предполагается, что данный ген дополняет эффекты генов *Ty-3* и *Ty-5* [Anbinder, 2009].

Также в мире проводятся работы по поиску и изучению генов устойчивости к вирусу бронзовости томата TSWV (*Tomato spotted wilt virus*). Этот вирус имеет чрезвычайно широкий круг растений — хозяев и создает

опасность заражения потенциальных растений - хозяев. Заболевание передается механическим способом трипсами, включая табачной трипс *Frankliniella fusca* и западной цветочной трипс *F. occidentalis*.

Передача происходит по персистентному типу, когда в период питания личинок на больных растениях они сами заражаются вирусом [Ахатов, 2012].

Мнения о генах, контролирующих устойчивость к бронзовости различны. M.R. Stevens с другими исследователями (1992) отметили, что устойчивость к TSWV контролируется одним доминантным геном. N. Kumar и другие (1992) выявили, что устойчивость к бронзовости обеспечивают некоторые рецессивные гены, в некоторых случаях более четырех генов.

Гены устойчивости к бронзовости содержатся во многих диких видах. *L. hirsutum* и *L. hirsutum* var. *Glaratum*. Они выносливы к TSWV в условиях естественной инфекции. Также выявлено много образцов, устойчивых к бронзовости в виде *L. chilense* и в виде *L. peruvianum* [Paterson, 1989].

Многие исследователи утверждают о существовании пяти различных генов (двух доминантных – *Sw-1*, *Sw-2* и трех рецессивных – *sw-3*, *sw-4*, *sw-5*) устойчивости к бронзовости. Эти гены обеспечивают специфическую устойчивость к штамму. Но эти гены не применяют в селекции коммерческих гибридов томата, так как устойчивость быстро преодолевается.

Доминантный ген *Sw-5*, чаще использующийся в практической селекции, локализуется на длинном плече хромосомы 9 [Giordano, 2000]. Он дает широкую устойчивость к бронзовости во многих географических местах и устойчивость к 2 другим Тосповирусам: вирусу хлоротической пятнистости томата (TCSV – *Tomato chlorotic spot virus*) и вирусу арахисовой концевой пятнистости (GRSV – *Groundnut ring spot virus*) [Boiteux, 1993]. Эта особенность гена *Sw-5* дает возможность создания новых форм томата с устойчивостью к широкому спектру видов Тосповирусов [Giordano, 2000].

M. R. Stevens и другие ученые (1994) показали, что *Sw-5*-устойчивость сохраняется, хотя растения поражаются трипсами, содержащими вирус. Однако, по мнению S. Soler и других (1999) *Sw-5* – устойчивость обеспечивается реакцией сверхчувствительности, и частично преодолевается, когда происходит сильное заражение трипсами или полностью разрушается при появлении новых штаммов.

S.Rosello и другие (2003) выявили в *L. peruvianum* другой доминантный ген - Sw-6, который дает другой механизм устойчивости в сравнении с геном Sw-5. Этот ген может комбинироваться с другими генами устойчивости к TSWV, что улучшит уровень устойчивости. Еще один ген Sw-7, локализованный на хромосоме 12, вероятно, обеспечивает устойчивость к этому Топсповирусу. Ген Sw-7 выявили и перенесли из *L. chilense* в *L. esculentum*.

Сегодня вирус мозаики пепино (PerMV) поражает томат во многих странах Европы. Он передается с семенами, и во время ухода за растениями его разносят насекомые-опылители, что способствует быстрой экспансии патогена.

Ущерб от вируса пепино может изменяться в зависимости от гибрида томата, от того, на какой стадии роста и развития вирус попал в растение, при каких условиях и каким путем проникла инфекция.

Ведется работа по селекции томата на устойчивость к резко нарастающему вредоносности вирусу мозаики пепино (PerMV) – *Pepino mosaic virus*, однако пока устойчивых гибридов нет. Проводятся работы по выявлению устойчивых к *Pepino Mosaic Virus* диких видов томата. Были протестированы следующие виды: *Lycopersicon cheesmanii*, *L. chilense*, *L. hirsutum*, *L. pennellii*, *L. Peruvianum*, *S. caripense*, *S. muricatum*, *S. ocharantum* и другие. Наиболее перспективным донором устойчивости признан *L. chilense* [Soler-Aleixandre, 2006]. Кроме того, Kai-Shu Ling в 2006 было выявлено 2 образца *L. hirsutum*, устойчивые к PerMV (*Pepino Mosaic Virus*).

1.2.2 Устойчивость к грибным болезням томата

В настоящее время множество работ посвящено изучению устойчивости томата к настоящей мучнистой росе. Наибольший вред она наносит в стеклянных сооружениях. У мучнистой росы несколько возбудителей. При одном из них на листовых пластинах образуется белый налёт, стебли и черешки редко видоизменяются. При другом виде – сначала на верхней части листа появляются жёлтые пятна. Со временем весь лист

покрывается мучнистым налётом. Этому виду благоприятствуют низкая влажность и температура, а также недостаточный полив. Обзор литературы на устойчивость к этому заболеванию вынесен в отдельный раздел обзора.

Ведутся работы по маркированию генов устойчивости к фузариозному и вертициллёзному увяданию. Изучена устойчивость к различным расам *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* на геномном уровне. *Fusarium oxysporum* f. ssp. *Lycopersici* (Sacc.) Snyderet Hansen — почвенный гриб, который вызывает у томата болезнь увядания [Амин, 2005]. Этот гриб длительно сохраняется в виде хламидоспор на растительных остатках и в почве, и не теряет вирулентность [Амин, 2007].

Гены *I*; *I-2*; *I-3*, контролирующие устойчивость к фузариозу, были идентифицированы в диких видах томата [Аджиева, 2010]. Сцепленные гены *I* и *I-2* локализуются на хромосоме 11. Ген *I* был выявлен из *L. pimpinellifolium* и обеспечивает высокую устойчивость к расе 1. Однако, по мнению J.P. Jones и других авторов (1974), этот ген не всегда придает устойчивость к расе 1, так как проявление *I*-устойчивости зависит от температуры почвы, возраста инокулированных растений, концентрации инокулюма. Ген *I-2* был обнаружен у дикого вида *L. pimpinellifolium* и *L. peruvianum* и локализованный так же в 11 хромосоме, придает томату устойчивость к расам 1 и 2 [Simons, 1998]. Два этих гена переданы в культурный томат межвидовой гибридизацией.

В настоящее время известно, что локус *I-2* у вида *L. pimpinellifolium* состоит из семи – гомологов, в том числе четыре гомолога (*I-2*, *I2-C1*, *I2-C2*, *I2-C5*) были выявлены и изучены. М.Ю. Куклев (2007) выявил, что локус *I-2* у *S. esculentum* состоит из двух генов – гомологов, в том числе первый ген - гомолог имеет сродство к гену *I2-C* и второй – ранее неизвестный.

Ген *I-3*, локализованный в хромосоме 7 и переданный из *L. pennellii* в культурный томат, обеспечивает устойчивость к трем расам 1, 2, 3 [Boumival, 1990].

Ген *I-2C-5* был клонирован и нес частичную устойчивость к фузариозу. Была также обнаружена устойчивость к расе 3. Анализ данных картирования может свидетельствовать о консервативности или быстрой изменчивости генов [Игнатова, 2008].

На сегодняшний день изучению генов устойчивости очень помогает метод молекулярного маркирования. И.А. Фесенко и другие ученые (2007) создали ДНК– маркер гена устойчивости томата к фузариозному увяданию, который способен разделять устойчивые генотипы на гомозиготы и гетерозиготы. Д. Амини и Г.Ф. Монахос (2005) установили, что применение молекулярных маркеров сокращает процесс селекции путем отбора устойчивых генотипов к фузариозу томата и рекомендовали использовать линии томата, содержащие ген *I-2* в состоянии гомозиготы.

Вертициллезное увядание – широко распространенное заболевание, вызывающее большие потери урожая томата на 30 – 70%. Вертициллез вызывается *Verticillium dahliae* Kleb. и *V. albo – atrum* [Ахатов, 2012].

Устойчивость к расе 1 *Verticillium dahliae* определяется доминантным геном *Ve*. Данный ген идентифицирован в 1932 году в сорте томата *Pure Wild*. А первые устойчивые сорта с этим геном были созданы в 1950-х годах. Однако с течением времени появились новые расы, в том числе раса 2, и разрушили устойчивость к вертициллезу в устойчивых сортах томата [Daami – Remadi, 2006].

В настоящее время, ученые в разных странах предположили, что толерантность растения была защитной реакцией к второй расе *V. dahliae* и контролируется 2 или 3 рецессивными генами [Baergen, 1993].

У томата устойчивость к расе 1 *V. dahliae* контролируется одним доминантным геном *Ve*. Ген *Ve* был картирован на коротком плече хромосомы 9. W.R. Okie и R.G. Gardner (1982) отметили, что гомозиготы по этому гену в F1 гибридах дают устойчивость выше, чем гетерозиготы.

Z. Tabaeizadeh и другие авторы (1999) включили ген *pcht 28 (acidic endochitinase gene)*, выделенный из *L.chilense*, в *L. esculentum* с помощью

Agrobacterium– опосредованной трансформации. Трансформированные растения показали высокую толерантность к расам 1 и 2 *V. dahlia*. Молекулярный анализ показывает, что локус *Ve* состоит из двух сцепленных *Ve*-генов (*Ve -1* и *Ve- 2*). Ген *Ve – 1* обеспечивает устойчивость томата к расе 1 *V. dahliae* и *V. albo-atrum*, а к расе 2 *V. dahliae* и *V. albo – atrum* не дает устойчивости. Ген *Ve – 2* дает устойчивость к расе 1 *V. albo – atrum*.

Кладоспориоз (или бурая пятнистость) является вредоносным заболеванием томата в защищенном грунте. Возбудителем болезни является *Cladosporium fulvum* Cke [Ахатов, 2012].

Источником генов устойчивости в основном служат дикие виды и полукультурные разновидности рода *Lycopersicon*, которые были переданы путем межвидового скрещивания в культурные сорта томата [Грушецкая З.Е., 2010]. В настоящее время из разных источников томата в селекцию вовлечены устойчивые гены *Cf-1*, *Cf-2*, *Cf-3*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-9*; хотя известно, что в геноме диких видов количество генов *Cf* – устойчивости к кладоспориозу достигает 24 [Поликсенова, 2002].

Ген *Cf-1* был идентифицирован из *L. esculentum* Mill. Локус *Cf-5* был выявлен из *L. esculentum* var *cerasiforme*, а локус *Cf-4* был обнаружен в *L. hirsutum*. Гены устойчивости *Cf-2*, *Cf-3*, *Cf-6*, *Cf-9* были выявлены в *L. pimpinellifolium* (Mill.) Brezh [Dixon, 1998].

По мнению З.Е. Грушецкой и других исследователей (2010), сочетание нескольких устойчивых генов к заболеванию в одном сорте или гибриде привело к появлению более сложных рас патогена *C. fulvum*. В России самые распространенные расы - 1, 3, 4 и эффективные гены устойчивости – это гены *Cf-2*; *Cf-5*, *Cf-6*, *Cf-9*. Но с течением времени появились новые расы 2 и 5, и эффективен только ген *Cf-6*, а на дифференциаторах с генами *Cf-5* и *Cf-9* наблюдаются слабые симптомы поражения.

С.И. Игнатова и другие (1992) установили, что для получения более стабильной устойчивости к кладоспориозу принято не создавать F1 гетерозиготные гибриды по генам устойчивости, а сочетать в гибриде не

менее двух эффективных генов. Они, наряду с генами *Cf-2*, *Cf-5*, *Cf-9* и *Cf-1*, получили сорта Вираз, Находка, гибриды F1 Гренада и F1 Стриж, относительно устойчивые ко многим расам патогена. Многие исследователи доказали, что все выявленные *Cf*-гены находятся на двух хромосомах томата [Haanstra, 1999].

Гены *Cf-2* и *Cf-5* находятся на коротком плече хромосомы 6 и входят в группу *Hcr2* (англ. homologues of *C. fulvum* resistance gene *Cf-2*) [Dickinson, 1993].

M.S. Dixon с рядом авторов (1995, 1996) обнаружили, что в составе гена *Cf-2* различаются два различных функционирующих *Cf* гена - *Cf-2.1* и *Cf-2.2*, а также нефункциональная гомологичная последовательность *Hcr2-2A*.

Были выявлены три дополнительных гомологичных последовательности - *Hcr2-5A*, *B*, и *D* в составе гена *Cf-5* [Dickinson, 1993]. Ген *Cf-6* картирован в хромосоме 6 и также входит в кластере *Cf-2/Cf-5*. Локус *Cf-6* придает томату устойчивость к кладоспориозу на более продолжительное время.

Гены *Cf-4* и *Cf-9* были идентифицированы на коротком плече хромосомы 1 и входят в группу *Hcr9* (англ. homologues of *C. Fulvum* resistance gene *Cf-9*) [Balint-Kurti, 1994]. Ген *Cf-1* был картирован в области кластера *Cf-4/Cf-9*, все локусы *Cf-4*, *Cf-9*, *Cf-1* и также пять других *Hcr-9* последовательностей входят в один кластер, который называется Milky Way.

На данный момент у сортов томата обнаружено 3 гена устойчивости *Phi* (Gallegly, Marvel, 1955); *Ph3* (Балашова, 1976) и *Ph2* (Goodwin et al., 1995). Выявлен ген (*Ph-3*) устойчивости к фитофторозу (*Phytophthora infestans*). Селекционерами из Корнельского университета разработан экспресс метод определения устойчивости томата к фитофторозу (новым агрессивным штаммам) с применением ПЦР.

В работе использовали резистентный ген дикого вида *S. pimpinellifolium*. Этот молекулярный метод используется в маркерной

селекции во многих крупных селекционных компаниях, университетах и международных исследовательских центрах. Метод позволяет определять гомозиготность / гетерозиготность гена и может заменить скрининг с использованием штаммов фитофторы. На основе применения ПЦР метода был создан устойчивый сорт томата, который в настоящее время проходит апробацию.

Были картированы три гена томата, контролирующие вертикальную устойчивость к фитофторозу: *Ph3* – в хромосоме 9, *Ph1* – в хромосоме 7, *Ph2* (частичная устойчивость) – в хромосоме 10. Обнаружена и изучена полевая (количественная) устойчивость к *Ph. infestans* у дикого вида *L. hirsutum*. Идентифицированы локусы (QTLs: *lb1a*, *lb3*, *lb4*, *lb5b*, *lb11b*, *lb5ab* и *lb6ab*) и созданы изогенные линии (линии с идентичными генами за исключением одного) [Brouwer, 2004]. Оценка проводилась по комбинации признаков устойчивости и качества плодов. Была составлена карта групп сцепления и идентифицированы локусы, контролирующие полевую устойчивость к фитофторозу у *S. habrochaites* (*L. hirsutum*), во всех 122ти хромосомах. Было показано, что некоторые аллели локализованы в тех локусах, где картируются гены устойчивости (R-genes) к фитофторозу у картофеля, что указывает на консервативность признака в семействе *Solanaceae*.

Картирование локусов позволит внедрить устойчивость к фитофторозу без ухудшения качества плодов (без переноса специфических аллелей, определяющих размер и качество плодов, из *S. habrochaites* (*L. hirsutum*)). В настоящее время ведется маркерная селекция. Другими авторами были найдены дополнительные локусы количественной устойчивости к фитофторозу (QTL) у дикого вида *S. pennellii* и картированы у F2 (*S. esculentum* × *S. pennellii*) [Smart, 2007].

Идентификация QTL – несомненно, важный этап в создании длительной устойчивости томата к фитофторозу.

Серая гниль томатов наносит очень большой ущерб томатам в отдельных регионах. При травмировании стеблей во время ухода за

растениями, они (стебли) сильно поражаются в первую очередь. Развивается заболевание в период плодоношения, лучше всего во влажную погоду. Возбудителем данной болезни является - *Botrytis cinerea* Pers.

Компания De Ruiter Seeds создала с использованием молекулярных маркеров сорта томата, устойчивые к серой гнили (*Botrytis cinerea*). Гены устойчивости были найдены у дикого вида *S. habrochaites* (*L. hirsutum*) LYC4.

Было идентифицировано 10 факторов устойчивости: 3 основных (*Rbcq1*, *Rbcq2* и *Rbcq4a*) и 7 дополнительных локусов [Finkers, 2007]. Обнаружено аддитивное действие локусов и созданы линии интрогрессии (IL-популяции) для переноса генов из дикого вида в культурный томат (элитные голландские сорта) [Guimaraes, 2004]. Метод открывает хорошие перспективы для селекции сортов томата, обладающих устойчивостью к серой гнили. Результаты исследований по устойчивости томата к *B. cinerea* защищены патентом.

1.2.3 Селекция на устойчивость к вредителям

Галловая нематода (*Meloidogyne* spp.) - паразит томата, вызывающий большое снижение продуктивности при выращивании в открытом и в защищенном грунте. В настоящее время в России были зарегистрированы три вида галловых нематод: *Meloidogyne incognita*, *M. hapla* и *M. arenaria* [Долматов, 2005].

Широкий круг растений-хозяев вызывает трудности при исследовании устойчивости к галловой нематоде [Ахатов, 2012].

Устойчивость к галловой нематоде контролируется доминантным геном [Алпатыев, 1986]. Донором гена *Mi* служит вид *L. peruvianum*. Этот ген был перенесен в культурный вид томата *L. esculentum* [Игнатова, 1987]. Ген *Mi* расположен на коротком плече хромосомы 6 и входит в кластер *Cf-2/Cf-5*.

С. И. Игнатова (2001) отмечает, что ген *Mi* в гомозиготном состоянии снижает фертильность пыльцы на 25-30%, урожайность и, иногда, массу плода. В гетерозиготе фертильность восстанавливается, но снижается

устойчивость к болезни, и она становится зависимой от температуры. Однако использование гетерозисного эффекта в гибридах F1 позволило снизить отрицательное действие генов *Mi*-устойчивости и получить томаты с высокой потенциальной урожайностью.

В состав генома *Mi* включаются два доминантных гена *Mi-1*, *Mi-2* и один рецессивный ген – *Mi-3*. Доминантные R-гены устойчивости *Mi-1* и *Mi-2* были обнаружены в сортах томата Nematex и Small Fry-1 и они тесно сцеплены. Рecessивный R-ген *Mi-3* сначала выявили в сорте Cold

Set-1. Картирован в хромосоме 12 [Yaghoobi, 2005]. Но не существует взаимосвязи между геном *Mi-3* с другими генами, и цитоплазматическое влияние внешней среды вызывает непостоянность гена *Mi-3*.

До настоящего времени ген *Mi-1* служит основным донором устойчивости к галловой нематоде томата и чаще применяется в практической селекции. Ген *Mi-1* придает устойчивость к трем видам нематоды: *M. arenaria*, *M. incognita* и *M. javanica*, но к четвертому *M. hapla* не обеспечивает [Roberts, 1986].

Были выявлены два гомолога гена *Mi-1* устойчивости к нематоде – *Mi-1.1* и *Mi-1.2*, но в экспериментальных опытах только ген *Mi-1.1* дает устойчивость. Ген *Mi* обеспечивает устойчивость при температуре ниже, чем 28⁰С. Если температура выше, устойчивость разрушается [Devan, 2010].

Гомозиготность по доминантному гену обеспечивает уровень устойчивости томата выше и стабильнее, чем гетерозиготность. С. И. Игнатова, Н.С. Горшкова (1992), при исследовании гетерозиготных F1 гибридов по гену *Mi* при температуре 28–35⁰С, выделили наиболее резистентные гибридные комбинации.

Другой ген - *Mi-3* – идентифицирован в формах PI 126443 клон 1МН, PI 270435 клон 3МН и 2R2 (*L. peruvianum*) и обеспечивает устойчивость к *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, и *M. hapla*. Ген *Mi-3*, находящийся на коротком плече хромосомы 12, дает устойчивость томата к нематоде при температуре выше 32⁰С [Yaghoobi, 2005].

В LA2157 (*Solanum arcanum*) из Перу был обнаружен другой доминантный ген Mi-9 устойчивости к нематоде. Ген Mi-9 дает устойчивость к авирулентным изолятам Mi-1 у *M. arenaria*, *M. incognita*, *M. javanica* при температуре от 25⁰С до 32⁰С. Ген Mi-9 картирован на коротком плече хромосомы 6, и является гомологом гена Mi-1 [Veremis, 1999].

Ведутся работы по созданию гибридов, имеющих устойчивость к цисто образующим нематодам и разработке молекулярных методов её маркирования. Устойчивость к цистообразующим нематодам была выделена из образца LA1792 *L. pimpinellifolium*, которая контролируется одним доминантным геном Него, расположенным в 4 хромосоме [Sobczak, 2005].

Большой объём работ ведётся по созданию сортов томата, устойчивых к паутинному клещу и белокрылке. При этом параллельно будет решена задача по борьбе с вирусными заболеваниями томатов, переносчиками которых является белокрылка.

1.2.4 Селекция на устойчивость к бактериальным заболеваниям томата

Ведутся работы по созданию томатов, устойчивых к бактериальному увяданию (возбудитель *Ralstonia solanacearum*). Устойчивость к бактериальному увяданию контролируется 10 локусами, из них 4 были признаны наиболее важными. Первый большой локус картирован в 3 хромосоме между маркерами TG564 и K4a. Второй - в основании 4 хромосомы и два последних локуса - в 6 хромосоме [Ахатов, 2012].

Также ведутся работы по получению устойчивых томатов путем экспрессии генов глюконазы и дефензина в трансгенных томатах, что приводит к повышенной устойчивости к бактериальному увяданию.

Ведутся работы по выявлению генов устойчивости к бактериальной пятнистости, по их взаимодействию и получению гибридов томата с широким спектром сопротивления. Были получены устойчивые к бактериальному заболеванию (возбудитель - *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) трансгенные растения томата, экспрессирующие антибактериальный

ген лактоферрина (гликопротеин, связывающий катионы железа), путем агробактериальной трансформации. Установлено, что устойчивость к этому заболеванию контролируется 3 доминантными генами *Pto-1*, *Pto-4* и *Prf*.

1.3 Селекция томата на устойчивость к мучнистой росе томата

Мучнистая роса томата возбудитель - *Oidium lycopersicum* Cooke & Massee появилась в России в 90 х годах прошлого столетия и продолжает распространяться на восток. Болезнь, проявляя типичные для всех мучнистых рос симптомы, способна при благоприятных условиях стремительно перейти к эпифитотийному развитию.

На томате в открытом грунте заболевание не имеет экономического значения, в пленочных теплицах оно появляется в августе, когда основной урожай уже убран. Заболевание оказывается вредоносным в стеклянных теплицах в случае его развития в ранний период. Как правило, заболевание поражает томат в летний период. Также болезнь поражает растения томата в продленном обороте [Ахатов, 2013].

В России болезнь начала наносить урон производству тепличных томатов в 80-90 годах прошлого века и в настоящее время является серьезным по своим масштабам, патогенности и хозяйственному значению заболеванием [Емелина, Терешонкова, 2010].

Болезнь проявляется в виде белого мучнистого налета на листьях, стеблях, цвето- и плодоножках, чашелистиках томатного растения. Не отмечается на лепестках, плодах, корнях. На листьях образуется белый мучнистый налет в виде конидий округлой формы белого цвета. По мере развития заболевания вся поверхность листа покрывается налетом. Постепенно хлороз тканей листа переходит в некроз. Поражение стеблей и черешков наблюдается только на чувствительных сортах при высокой степени развития заболевания [Ахатов, 2013].

В селекции на устойчивость оценку материала повторяют многократно и на более высоком методическом уровне по мере продвижения

селекционного материала от питомников до сортоиспытания. Пока селекционный образец представлен в питомнике небольшим числом растений визуальный учет заболеваний дает данные, определяющий отбор и браковку. По мере увеличения учетной делянки возрастает значение таких показателей отбора, как урожайность и другие показатели, необходимые для учета в сортоиспытании [Гешеле, 1978]. В России имеется несколько научных центров, где ведется селекция на устойчивость томата к таким вредоносным болезням как фитофтороз, фузариоз, кладоспориоз, ВТМ [Жученко, 1973; Горшкова и др., 1998; Скворцова и др., 2002 и др.] В большинстве случаев исследователи не делятся стратегией селекционной работы. Как правило, это связано с коммерческой конфиденциальностью.

С другой стороны, выявление механизмов наследования (доминантный, рецессивный) сразу направляет селекционный процесс по тому или иному руслу. Весьма важным моментом является выбор источника устойчивости. Работа с каждым из «дикарей» имеет индивидуальные особенности, тонкости и подводные камни в виде барьеров нескрещиваемости и т.п. Поэтому любой опыт в этом направлении ценен и уникален. Привлекательной особенностью отдаленных скрещиваний является интенсивный формообразовательный процесс в F₂ и более поздних поколениях гибридов [Тимин и др, 2001]. Об этом свидетельствует, например, статья М.З. Луновой (1970). В F₂ и F₃ поколениях гибридов отдаленного скрещивания формообразовательный процесс шел более интенсивно. Наряду с растениями, близкими к исходным родительским формам, встречался целый веер промежуточных форм, причем сочетания выходили самые причудливые.

К настоящему времени усилиями голландских исследователей [Huang Cai-Cheng, Cui Y.Y. Weng, CR. Zabel, F. Lindhout, 2000] выявлена возможность использования в селекции на устойчивость томата к мучнистой росе генетических маркеров. В частности, речь идет об обнаружении RFLP и SCAR маркеров вблизи гена *Ol-1*. В целом, селекция на устойчивость томата

к мучнистой росе весьма интересна и перспективна, особенно если учесть, законную дороговизну, качественных иностранных семян.

Большинство культурных томатов восприимчиво к мучнистой росе, однако в диких видах томата были идентифицированы и переданы в культурный томат несколько источников устойчивости [Lindhout и др., 1993]. До настоящего времени 9 генов были идентифицированы, которые дают растениям устойчивость к мучнистой росе. *Ol-1*, который был передан от *S. habrochites* G1.1560 [van der Beek et al., 1994] и был нанесен на карту на длинном плече 6 хромосомы томата [Bai et al., 2005]. *Ol-1* увеличивает основную защиту, вызывая отсроченный некроз клеток (DCD) в поздних стадиях патогенной инфекции [Li и др., 2007]. Ген *ol-2* - рецессивный ген устойчивости, найденный в *S. lycopersicum* var *cerasiforme* LA1230 и расположенный на хромосоме 4 [Ciccarese и др., 1998]. Клонирование этого гена показало, что *ol-2* - гомолог гена ячменя *Mlo* [Bai et al., 2008]. Рецессивный ген, *ol-2*, который кодирует мембранный белок, добивается устойчивости к мучнистой росе, побуждая каллозное смещение и укрепление клеточной стенки, которое останавливает мучнистую росу на стадии проникновения [Bai и др., 2008]. *Ol-3* был передан от *S. habrochites* G1.1290 [Huang et al., 2000] и расположен на той же самой хромосомной области, что и *Ol-1* и есть некоторые доказательства, которые свидетельствуют, что *Ol-1* и *Ol-3* - вероятно, аллельные варианты [Bai et al., 2005]. *Ol-4* был передан от *S. peruvianum* LA2172 и картирован на коротком плече хромосомы 6 [Bai et al., 2004]. *Ol-5* - интрогрессирован от *S. habrochites* PI247087 и был картирован близко с *Ol-1* и *Ol-3* на длинном плече хромосомы 6 [Bai et al., 2005]. *Ol-6* был найден в селекционной линии с неизвестным происхождением и картирован в том же положении, что и *Ol-4* [Bai et al., 2005]. Кроме того, три локуса количественных генов (*Ol-qtls*) были идентифицированы как дающие устойчивость в *S. neorickii* G1.1601 [Bai et al., 2003]. *Ol-qtls 1* был картирован на хромосоме 6 в хромосомной области, где также расположены *Ol-1*, *Ol-3* и *Ol-5*. *Ol-qtls 2* и *Ol-qtls 3* были

картированы на хромосоме 12 около гена устойчивости *Lv* другого возбудителя мучнистой росы (*Leveillula taurica*) [Bai et al., 2003]. Приблизительные местоположения этих локусов *Ol* на хромосомах томата показаны на рисунке 1.

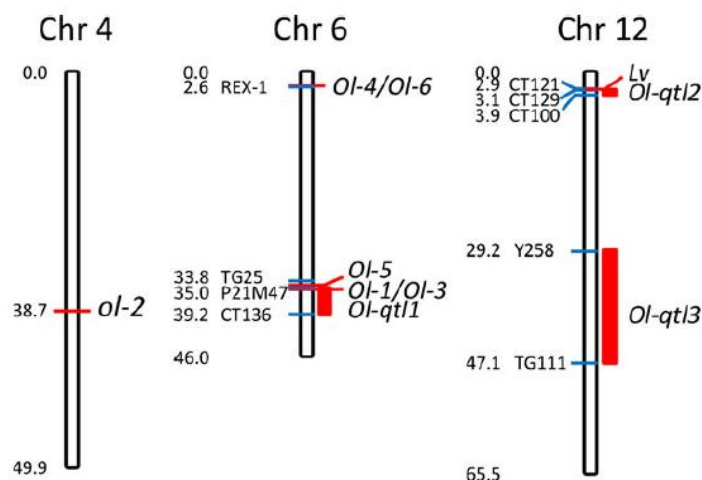


Рисунок 1 – Расположение генов устойчивости к мучнистой росе на хромосомах томата

Смерть растительной клетки - один из механизмов сопротивления против биотрофических патогенов, который ограничивает продвижение патогена по растительным тканям. Реакция гиперчувствительности (HR) - форма некроза клеток, который как правило вызывается после определения патогенной невирулентности (Avr) белками устойчивых растений (R) [Nimchuk и др., 2003]. Было сообщено, что HR - главный механизм сопротивления томата (*Solanum lycopersicum*) к *Oidium lycopersici*, возбудителю мучнистой росы томата [Huang и др., 1998]. Особенно, две различные формы HR наблюдались в ответной реакции на поражение мучнистой росой. HR единственной клетки [Huang и др., 1998; Bai и др. 2005], также определенная как быстрая HR [Li et др., 2007] происходит в присутствии *Ol-4*. Ген *Ol-4* получен из *S. peruvianum* LA2172 и кодирован белком NBS-LRR R. Другая форма, HR множества клеток [Huang и др. 1998; Bai и др. 2005], также описанный как медленная HR [Li и др., 2007], происходит в томатах, несущих ген *Ol-1* или *Ol-5*. Гены *Ol-1* и *Ol-5* идентифицированы от диких видов томата *S. habrochaites* G1.1560 и

PI247087, соответственно [Huang и др., 2000; Bai и др., 2005] и картированы как группа на длинном плече 6 хромосомы томата [Bai и др., 2005]. Устойчивость, даваемая *Ol-1* или *Ol-5*, является неполной и "расонеопределенной", так как почти все изогенные линии, несущие эти гены (*NIL-Ol-1* и *NIL-Ol-5*), показали, что разные уровни устойчивости различным расам мучнистой росы, которые были проверены [Bai и др., 2005].

Таким образом устойчивость к мучнистой росе томата, вызываемой *Oidium neolycopersici*, обусловлена несколькими генами устойчивости включая *Ol-1*, *ol-2*, *Ol-4* и *Ol-qtls*, которые вызывают различные механизмы сопротивления [Bai и др., 2003; Li и др., 2006].

На данный момент наиболее часто применяемые в селекции следующие гены устойчивости к *O. lycopersici* указаны в таблице 2.

Таблица 2 – Гены устойчивости томата к *O. lycopersici*.

Ген	Источник	Проявление гена	Уровень устойчивости	Расположение в геноме
<i>ol-2</i>	<i>S. lycopersum</i> var. <i>Cerasiforme</i> LA1230	Рецессивный	Высокий	Chr. 4
<i>Ol-4</i>	<i>S. peruvianum</i> LA2172	Доминантный	Иммунный	Chr. 6
<i>Ol-6</i>	-	Доминантный	Очень высокий	Chr. 6
<i>Ol-1</i>	<i>S. habrochaites</i> G1.1560	Доминантный	Не полный	Chr. 6
<i>Ol-3</i>	<i>S. habrochaites</i> G1.1290	Доминантный	Не полный	Chr. 6
<i>Ol-5</i>	<i>S. habrochaites</i> PI247087	Доминантный	Не полный	Chr. 6

1.4. Применение искусственного досвечивания при выращивании томата в зимних остекленных теплицах

Томат относится к группе культур, требовательных к свету. Несмотря на высокую требовательность к освещенности, большинство сортов и гибридов томата обладают фотопериодической полунейтральностью, что позволяет их возделывать в различные сроки. По мере снижения уровня освещенности у томата снижаются темпы роста и развития [Цыдендамбаев А. Д., 2011]. А. С. Кружилин (1975) отмечает, что культура томата увеличивает темпы развития в условиях короткого дня, а применение укороченного дня и сине-фиолетового света при выращивании рассады позволяет ускорять наступление бутонизации и цветения, что способствует получению более раннего урожая.

По проблеме необходимого количества освещенности для нормального роста и развития вегетативных частей растений томата мнения авторов расходятся. Одни указывают, что необходима освещенность 20–25 тыс. лк [Карие К. Э., 1962; Клеринг Х. П., 1982; Балашов Е. С., 2006], а другие утверждают, что для вегетативных органов томата достаточно – 17–23 тыс. лк, но для репродуктивных органов требуется 55–60 тыс. лк [Тараканов Г. И. и др., 1982]. Так как, чем интенсивнее освещенность, тем быстрее идет формирование урожая.

При низкой освещенности 5 тыс. лк развитие репродуктивных органов протекает крайне медленно, а при 2,7–3 тыс. лк приостанавливается [Брянцева, З. Н., 1989]. Длительная пасмурная погода увеличивает период между цветением и созреванием плодов на 10-15 дней и ухудшает их вкусовые и товарные качества. Снижение освещенности на 1% уменьшает величину урожая на 1%. При выращивании растений в условиях благоприятного освещения (16-часовые дни), цветение первого соцветия начинается на 44–47 день с момента посева [Игошина, З. И., 1982].

Лесовская С.Г. (1991) также утверждает, что пониженная освещенность оказывает влияние на величину как раннего урожая, зависящего от развития первого соцветия, так и общего.

Однако слишком высокая освещенность (60–70 тыс. лк) задерживает вегетативный рост растений томата. Продолжительное непрерывное освещение оказывает отрицательное влияние на томат, ведет к расстройством: слабому развитию листовой пластинки, бледной ее окраске за счет разрушения части хлорофилла, появлению пятен, возможно даже к отмиранию листа, нарушению нормальных процессов плодоношения [Брянцева З. Н., Альтергот В. Ф., 1989].

К настоящему времени известен ряд приемов и методов искусственного облучения растений, позволяющих сократить сроки их выращивания без ухудшения качества продукции. К таким приемам следует, прежде всего, отнести импульсное и переменное облучения [Молчанов А.Г., Самойленко В.В., 2013].

Goto E, (2003) отмечал, что импульсное освещение или кратковременное дополнительное освещение, с различными спектральными свойствами, могут быть полезны для улучшения физиологических и морфологических реакций и получения более высокого урожая при заданной энергии излучения. Контроль качества света является наиболее доступным методом для достижения этой цели.

Томаты возделываются во всех типах защищенного грунта: зимних почвенных и гидропонных теплицах, а также в весенних культивационных сооружениях с искусственным обогревом и без него. Применяются следующие виды культуры: зимне-весенняя, продленная, осенне-зимняя и переходная. Важным моментом является правильный подбор сортов и гибридов для каждого срока выращивания и для каждого типа сооружений [Гуриш А. В., 2006] .

Анализируя литературные источники начала XX века посвященные селекции и семеноводству томата в России, было отмечено, что в

монографии «Томаты», написанной коллективом авторов, во главе с А.В. Алпатьевым (1937), впервые дано подробное деление сортов по способу их использования в различных культивационных сооружениях. Также в этой книге, дается подробное описание сортов и особенности их выращивания в различных культивационных сооружениях, способы формирования растений и даже их электродосвечивание. Можно считать этот период началом внедрения искусственного досвечивания томата в России.

Начиная с 2013 года, началось активное внедрение этой технологии выращивания растений томата в теплицах. Всего за 2013 год, искусственное досвечивание стали применять в 22 тепличных комбинатах страны на площади в 84,6 га (ООО «Майский» г. Казань (22 га), ЗАО «Агрофирма «ВЫБОРЖЕЦ», Ленинградская обл., (9 га), ООО «Новгородские теплицы», г. В. Новгород (6 га), ООО «Агрокомплекс «ЧУРИЛОВО», г. Челябинск (6 га), ООО ТК «Новосибирский» (6 га), ООО «Зеленая линия», г. Краснодар (5 га), ООО «Тепличный», г. Кемерово (5 га), в остальных комбинатах технологию испытывали на площади 1-2 га) [Гавриш С.Ф., 2021].

За последние 5 лет производство тепличных овощей в сельскохозяйственных организациях страны увеличилось на 50 %, а в 2020 году, впервые в истории современной России, произведено около 1,3 млн. тонн свежих тепличных овощей. По данным ассоциации «Теплицы России» в 2020 году, в тепличных комплексах, где используется светокультура, площади занятые под томатом достигли 676 га, что составляет 46 % от общих площадей.

Не так много отечественных селекционных компаний предлагают гибриды для светокультуры. При этом ведется активная селекционная работа по созданию гибридов для этого сегмента рынка. Селекция для светокультуры требует больших финансовых вложений: теплицы, оснащение, оборудование и др.; к тому же огурцы более рентабельны в светокультуре, чем томат [Гавриш С. Ф., Король В. Г., 2017].

Предпочтительно культивирование в условиях интенсивной светокультуры раннеспелых и среднеспелых сортов и гибридов томата, отличающихся высокой урожайностью и хорошим качеством плодов. Плоды выбранных сортов и гибридов томата должны быть среднего размера, обладать хорошей товарностью, выравненностью и высоким содержанием полезных веществ. Растения томата должны относиться к генеративному типу развития, при котором процессы плодоношения доминируют над вегетативным ростом [Удалова О.Р., 2015].

Гавриш С.Ф. (2017) также отмечает наибольшую технологичность для светокультуры среднеплодных томатов с массой плода 160, 180, 200 г, которые не имеют недостатков крупноплодных томатов (требование определенной логистики; образование крупного пестичного рубца). Наиболее рентабельными из среднеплодных являются томаты с розовой окраской плода, для фасовки на подложку и достаточно высокой ценой реализации.

В своих трудах Нестерович А. Н. (2018) указывает на развитие в России нового сегмента – кистевые томаты с массой плода 100–140 г. Такие гибриды подходят для профессиональных теплиц с досвечиванием лампами, с возможным сбором кистями нормировкой на 6-8 плодов без потери качеств. У них равномерное созревание плодов в сочетании с высокой биологической и потребительской ценностью.

Средняя урожайность томата в условиях светокультуры у нас в стране достигает 95 – 100 кг/м², что в 1,7 раз больше, чем при традиционной технологии [В.Г. Король, 2020]. При оптимальном уровне освещенности возможно получение у томата 110 – 120 кг/м².

Успехом внедрения любой технологии при выращивании растений является правильный выбор сорта или гибрида. Ввиду того, что светокультура представляет собой сложный и высокотехнологичный процесс этот аспект является крайне важным. Исследуя литературные источники и практический опыт, автором были отмечены некоторые

особенности модели гибрида томата F1 для выращивания в условиях искусственного досвечивания (светокультуры).

Основные признаки модели гибрида для выращивания в условиях светокультуры – это индетерминантный тип роста, генетическая устойчивость к основным патогенам томата, и конечно высокая продуктивность. Стоит отметить особенности растений, которые, с нашей точки зрения, необходимо обязательно учитывать в селекционной работе.

Рост растений у гибридов томата должен быть непрерывным, и по возможности равномерным в течение всего периода вегетации. Высокие требования к качеству плодов гибридов томата рекомендуемых для выращивания методом светокультуры. Плоды должны быть устойчивыми к растрескиванию, с яркой и равномерной окраской при созревании, прочными и выровненными плодами по размеру в кисти, а также обладать гармоничным вкусом. Уборка плодов может быть как поштучной, так и кистями. Рекомендуемый вес кисти для поставки в сети 750 г (+ - 50 грамм).

Минимальная масса плодов, даже в условиях жаркой летней погоды, должна быть не меньше 160 г. Важным признаком является жаростойкость гибрида. В благоприятных условиях выращивания растения обязаны формировать одно соцветие в неделю (оптимально 1,0 - 1,2 соцветия в неделю).

Плоды прочные, с выполненными семенными камерами, ярко-красного насыщенного цвета, желательно с блеском. Гибрид должен обладать генетической устойчивостью к вершинной гнили плодов, в том числе и внутренней.

Длина междоузлий допускается не более 10 см., а длина недельного прироста не должна превышать 30 см. Чтобы исключить проблемы с плотностью стеблей на 1 м² – необходимая длина листа не более 35-40 см, а сам лист не поникающий или слабо поникающий.

Гибрид томата F₁ должен хорошо расти при уровне освещенности в 15 000 люкс. Обязательным условием для гибрида, рекомендуемого на выращивание с применением искусственного досвечивания (светокультуры) является наличие генетической устойчивости (толерантности) к настоящей мучнистой росе (*Oidium lycopersicum*)

1.5. Характеристики молекулярных маркеров, используемых в селекции сельскохозяйственных культур

Современные технологии выявления молекулярных или ДНК-маркеров являются важным инструментом при селекции растений, их применение по всему миру увеличивается. Использование методик маркирования позволяет точно и быстро исследовать генетическое разнообразие популяций, подвидов, видов, и даже дифференцировать более высокие таксономические ранги - рода и семейства, а также делает возможным создание генетических фингерпринтов ("отпечатков пальцев") сортов, и эффективно, с точки зрения затрат, определять хозяйственно-ценные признаки еще на начальном этапе селекции на уровне ДНК.

В конце XX века исследования в области генетики перешли на новый уровень – началось широкое изучение генов и некодирующих локусов геномов на уровне ДНК. Изучаемые локусы были нанесены на карты сцепления, на которых хозяйственно значимые гены оказались плотно окружены некодирующими геномными локусами, полиморфными на уровне ДНК – ДНК-маркерами. Первая молекулярно-генетическая карта картофеля была сконструирована в 1991 г. [Gebhardt и др., 1991].

1.5.1. Характеристики ДНК-маркеров

RFLP-маркеры (Restriction Fragment Length Polymorphism) - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

Для обнаружения изменчивости на уровне ДНК одним из первых (с 1980 г.) стали использовать анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ) или англ. RFLP (Restriction Fragment Length

Polymorphism). Анализ включает следующие этапы: выделение геномной ДНК, ее рестрикция специфической эндонуклеазой, электрофоретическое разделение образующихся фрагментов ДНК и идентификация фрагментов ДНК, содержащих полиморфный сайт рестрикции, путем блот-гибридизации по Саузерну. Если анализируемый участок имеет измененный состав нуклеотидных последовательностей, то рестриктаза не может его разрезать и на электрофореграмме наблюдается разделение фрагментов по длине. ПДРФ-анализ был значительно упрощён и стал более информативным после совмещения его с ПЦР. Поэтому многие исследователи ПДРФ-маркеры начали переводить в ПЦР-ПДРФ-маркеры.

Преимущества метода ПДРФ [по Кармен де Висенте и др., 2003]:

- Надежная методология, которую можно повторить в разных лабораториях;
- Наследуется кодоминантно, следовательно, может быть использован для оценки гетерозиготности;
- Не требует информации о нуклеотидной последовательности;
- Пригоден для филогенетического анализа родственных видов и родов, в пределах одного семейства [Хлесткина, 2013];
- Подходит для построения карт генетического сцепления [Календарь и др., 2002];
- При наличии подходящих зондов можно исследовать любые растения.

Недостатки метода ПДРФ:

- Требуется большое количество ДНК;
- Невозможность автоматизации;
- Низкий уровень полиморфизма у некоторых видов;
- Обнаруживается небольшое число локусов во время анализа;
- Требуется больших временных затрат (при использовании гибридации по Саузерну), в особенности с однокопийными пробами;
- Дороговизна, связанная с использованием радиоактивных и нерадиоактивных меток и рестриктаз [Календарь, 1996];

– Необходимо распространение зондов между сотрудничающими лабораториями.

При помощи технологии ПДРФ-анализа удалось установить гомологию между хромосомами пшеницы (*Triticum tauschii*) и ячменя (*Hordeum vulgare*). Оказалось, что в геномах этих растений, принадлежащим к разным родам, более 95% малокопийных последовательностей сходны, но различие в умеренных повторах составляет 42% [Devos et al., 1993]. Также, при помощи этого метода возможна идентификация генов устойчивости к абиотическим и биотическим стрессовым факторам. Так, например, на основе 10 групп сцепления сконструированных на 88 линиях овса идентифицированы гены устойчивости к стеблевой ржавчине [Rayapati et al., 1994], а у *Triticum spelta* в длинном плече 5А хромосомы идентифицировали три ПДРФ-маркера, сцепленных с генами *Vrnl* и *Fr1*, ассоциированных с яровизацией и морозостойкостью, соответственно [Galiba et al., 1995].

*CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequence) - полиморфизм
рестрикционных фрагментов амплифицированной ДНК*

Развитием RFLP-анализа явился метод CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*). По сути, он является объединением классического ПДРФ-анализа с методом ПЦР, что позволяет работать с определенным фрагментом ДНК, вместо использования всей геномной ДНК [Heubl, 2013].

CAPS-анализ состоит из следующих этапов: выделение ДНК, проведение ПЦР со специфическими праймерами; гидролиз амплифицированных фрагментов с помощью рестриктаз; электрофоретическое разделение продуктов гидролиза в геле.

Различия проявляются в легко отличимых по длине продуктах - фрагментах ДНК при электрофорезе. CAPS-маркеры разрабатываются на основе известной нуклеотидной последовательности, являются кодоминантными и позволяют выявлять полиморфизм в большом количестве индивидуумов [Омашева, 2013]. CAPS-метод используют для

изучения строения, функции, экспрессии и регуляции генов, а также этот метод является удобным инструментом для маркер-опосредованной селекции (MAS). Методику широко используют в отборе на устойчивость к фитопатогенам у таких культурных растений как соя, ячмень, картофель, пшеница, томат и др., в случае если CAPS-маркеры основаны на фрагментах ДНК, тесно сцепленных с генами устойчивости [Шавруков, 2015]. Таким образом, CAPS-маркеры являются эффективным инструментом как в молекулярно-генетических исследованиях, так и в селекции растений.

*AFLP (Amplification Fragment Length Polymorphism) - полиморфизм
длин амплифицированных фрагментов ДНК*

Метод AFLP состоит из нескольких этапов: геномная ДНК разрезается двумя рестриктазами (обычно, *EcoRI* и *MseI*) с образованием выступающих 3'-концов, затем лигируется с адаптером, содержащим "липкие" концы для данных сайтов рестрикции. Далее проводятся две последовательных ПЦР: в первой, так называемой преамплификации, используют полностью комплементарные адаптерам *EcoRI* и *MseI* праймеры - их невозможно дифференцировать электрофоретически, во второй используют праймеры, содержащие на 3'-конце некомплементарные адаптерам дополнительные основания (от 1 до 3) - для селективной амплификации [Календарь и др., 2002].

Преимущества AFLP:

- Позволяет визуально оценить сразу сотни обработанных рестриктазой ампликонов ДНК [Глазко и др., 2000];
- Высокополиморфный фингерпринт (выше, чем при RAPD и ISSR) [Баташова и др., 2008];
- Дает хорошо воспроизводимые результаты [Календарь и др., 2002];
- Позволяет определить точечные мутации в сайте рестрикции или в участках отжига затравки [Breyne et al., 1997] и небольшими вставками-делециями внутри рестриктов (изменение размера полосы в спектре) [Календарь и др., 2002];

- Дает общую картину изменчивости генома [Mueller et al., 1999; Savelkoul et al., 1999];
- Успешно применяется в генотипировании и таксономическом анализе [Korzun, 2002];
- Подходит для создания карт хромосом и геномов [Хлесткина, 2013];
- Возможно определение генетической дистанции между изогенными линиями одного сорта [Баташова и др., 2008].

Недостатки AFLP:

- Доминантный тип наследования;
- Сравнительно сложный и дорогой (по сравнению с RAPD и ISSR);
- Многие выявленные молекулярно генетические маркеры, локализируются в центромерных и гетерохроматиновых районах хромосом, что может быть связано с неравновероятностным распределением сайтов узнавания используемых рестриктаз [Календарь и др., 2002].

Метод AFLP довольно часто используется для выявления генетического полиморфизма между разными сортами и линиями культурных растений. К примеру, при помощи этого метода был оценен полиморфизм между прядильными и наркотическими сортами конопли [Datwyler, Weiblen, 2006], между разными сортами черного перца *Piper nigrum* [Joy et al., 2007], репы *Brassica rapa* [Zhao et al., 2005] и других культур.

RAPD-маркеры (Random Amplified Polymorphic DNA) - случайно амплифицированная полиморфная ДНК

RAPD ПЦР - полимеразная цепная реакция, основанная на использовании одного, обычно декануклеотидного праймера с произвольной нуклеотидной последовательностью [Williams et al., 1990]. Начиная с 1990 г. метод RAPD активно используется, в частности, в генетике растений - для некоторых из видов растений с его помощью построены генетические карты [Календарь и др., 2002]. Как правило,

исследования с использованием RAPD выполняются следующим образом: из большого количества декануклеотидов эмпирическим путем подбираются такие, которые дают у данного объекта исследований наиболее легко типизируемые продукты амплификации, воспроизводящиеся при повторных исследованиях ДНК, несколько раз выделенной из одного и того же источника, т.е. подбираются уже из имеющихся наиболее удобные праймеры. Причем для решения некоторых задач, например, генетической паспортизации особей или сортов, удобнее подбирать праймеры, дающие большее число ампликонов, для межвидовых сравнений - с меньшим спектром продуктов амплификации.

Преимущества RAPD:

- Метод удобен для исследований разных видов при использовании одних и тех же праймеров;
- Не требует предварительного клонирования и секвенирования фрагментов для подбора праймеров;
- Позволяет быстро обнаружить вариабельность большого числа локусов по всему геному;
- Дешевизна и простота.

Недостатки RAPD:

- Чувствительность к изменениям условий реакции (буфер, полимеразы и концентрации компонентов реакции) и характеристик амплификатора (уменьшенная стабильность условий, например, при отсутствии термостатированной крышки).
- Температура реакции отжига достаточно низкая (30-37°C), что увеличивает вероятность образования продуктов амплификации (ампликонов) с большим количеством неспаренных оснований (ошибки отжига).
- RAPD-маркеры, как правило, ведут себя как доминантные, и их гетерозиготное состояние не отличается от гомозиготного, при этом точность оценок по сравнению с кодоминантными маркерами снижается.

- Для того чтобы уровень статистической достоверности данных, полученных при RAPD- анализе, соответствовал таковому при использовании кодоминантных маркеров, необходима довольно большая выборка;

- В результате ошибок отжига праймера образуются тусклые полосы. Чем больше таких ошибок, тем хуже амплифицируются RAPD- продукты и тем сложнее воспроизводить их при изменении условий реакции.

RAPD-анализ был применен в качестве инструмента для оптимизации селекционного процесса при проведении отбора дивергентных перспективных пар гибридизации в селекции на гетерозис образцов перца стручкового (*Capsicum annuum* L.) с целью изучения эффективности использования ДНК-скрининга [Шаптуренко и др., 2013].

Данный метод также был применен для расчета уровня внутривидового полиморфизма у пяти дикорастущих и одной культурной формы однолетнего подсолнечника [Маркин, 2010]. Однако для более точного генетического анализа подсолнечника еще ранее применяли метод SSR [Solodenko, 2005].

SSR-маркеры (Simple Sequence Repeats) - простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты)

SSR-локусы представляют собой простые повторяющиеся фрагменты генома, с единицей повтора 1-5 нуклеотидов. Они присутствуют в геномах всех высших организмов, как в ядерном, так и в геномах органелл, наследуются кодоминантно, достаточно легко детектируются и имеют более высокий уровень полиморфизма по сравнению с другими генетическими маркерами. Для многих видов растений составляются генетические карты сцепления SSR-маркеров с генами, кодирующими хозяйственно ценные признаки [Кильчевский, 2017]. Метод SSR-анализа является наиболее перспективным и пригодным для практического использования, благодаря таким критериям как высокая точность, надежность, а также хорошая воспроизводимость результатов.

С помощью метода SSR-анализа разработана система молекулярных методов для установления родственных связей, выделения уникальных генотипов и идентификации сортов, растений родов *Malus* и *Pyrus* из генофонда плодовых культур Беларуси на основе оценки уровня их генетического разнообразия и степени гомологии [Урбанович, 2013]. В ходе работы были определены гомологичные SSR-локусы видов и межвидовых гибридов, что позволило создать универсальную систему ДНК-идентификации: для рода *Malus* из 6 высокоинформативных полиморфных маркеров, для рода *Pyrus* - из 7 SSR-маркеров. Разработанный метод позволил получить молекулярно-генетические формулы сортов яблони, вишни обыкновенной, сливы домашней, сливы диплоидной и абрикоса, и осуществить ДНК-идентификацию генотипов в соответствии с критериями Отличимости, Однородности и Стабильности (ООС-тест) [Семашко, 2011]. Также были получены дендрограммы генетического сходства сортов этих плодовых культур [Урбанович, 2015]. На основе 8 SSR-маркеров был предложен достаточно информативный метод генетической идентификации сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa*), селекции Беларуси, России, Германии, Польши и других стран. Анализ позволил выявить 72 различных генотипа, 86 аллелей, в среднем 11 аллелей на маркер [Межнина и др., 2016]. Исследователи из Украины при помощи SSR-метода проводили сравнительный анализ двух линий кукурузы: ВІР-27 и, полученную из этой линии путем обработки семян стрептомицином (мутаген), линию ЧК-218 [Майданюк и др., 2007]. Степень полиморфизма SSR-локусов оказалась равной 26,9%, тогда как дальнейший RAPD-анализ этих же линий кукурузы позволил выявить степень полиморфизма равную 21,7%, из чего авторы сделали вывод, что стрептомициновый мутагенез затрагивает различные участки генома примерно в равной степени. Также было отмечено, что значительная часть проанализированных SSR-локусов имели более одного аллеля в геноме каждой линии, что может быть обусловлено гетерогенностью используемой для анализа смеси ДНК нескольких

растений. Этот же эффект при изучении SSR-полиморфизма исходных линий и линий-мутантов кукурузы наблюдался в работе исследователей из Болгарии, в которой авторы объясняют его загрязнением и дубликацией анализируемых последовательностей [Kostova et al., 2006].

Геном хлоропластов и митохондрий наследуется от одной из родительских форм, поэтому его широко используют для популяционных и эволюционных исследований у растений. Анализ последовательностей пластома 10 видов стручкового перца (род *Capsicum*) SSR-методом позволил сделать предположение о сходстве эволюционных процессов в ядерном и хлоропластном геномах [Рыжова и др., 2004]. Для анализа стручкового перца был применен праймер, подобранный к *Nicotiana tabacum*, что позволило обнаружить незначительную дивергенцию пластомных последовательностей у разных родов семейства *Solanaceae* и предложить использование того же праймера для изучения картофеля (*Solanum tuberosum*). На основе проведенного микросателлитного сравнения хлоропластной ДНК была построена дендрограмма близкородственных видов перца, которая оказалась аналогичной таковой, построенной в результате RAPD-, AFLP- и изоферментного анализов, причем SSR-метод позволил выявить более высокий уровень внутривидового полиморфизма по сравнению с RAPD- и AFLP-анализом у представителей *Capsicum baccatum* [Рыжова и др., 2004].

ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) - межмикросателлитные последовательности

Микросателлитные последовательности окружают многие гены и могут использоваться как якорные последовательности при подборе праймеров к этим генам, что и лежит в основе ISSR-анализа. Этот метод начал развиваться в 1994 г., а к настоящему времени получил широкое распространение, особенно в исследованиях генофондов различных видов растений [Глазка и др., 1999]. К основным свойствам ISSR можно отнести то, что в методе используется один или несколько праймеров длиной 15-24

нуклеотида [Сулимова, 1991]; при этом праймеры состоят из tandemных коротких 4 нуклеотидных повторов и одного селективного нуклеотида на 3'-конце праймера (например 5'-CA CA CA CA CA CA CA CA G) [Календарь и др., 2002]; продукты ISSR-амплификации содержат на флангах инвертированную микросателлитную последовательность праймера; относительно высокая точность и улучшенная воспроизводимость результатов по сравнению с RAPD в связи с большей длиной праймера и более высокой температурой отжига.

Преимущества ISSR-анализа:

- Для создания маркеров не требуется знание нуклеотидной последовательности [Вдовиченко и др., 2007; Бобошина и др., 2012];
- Не требует предварительного клонирования фрагментов для подбора праймеров;
- Полилокусность - наличие большого количества продуктов амплификации [Вдовиченко и др., 2007];
- Выявляемый полиморфизм с помощью ISSR, как правило, выше и более четко воспроизводим, чем в RAPD;
- Метод удобен для генетического анализа т.к. в геномах растений количество микросателлитных повторов очень велико;
- Предполагается их относительно равномерное распределение по длине генома;
- Дает четко воспроизводимые и стабильные результаты [Zhuet al., 2011];
- Дешевизна и простота.

Недостатки ISSR-анализа:

- Необходимо подбирать последовательность ISSR-праймеров более строго и использовать в анализе только "яркие" продукты ISSR-амплификации [Календарь и др., 2002];
- Доминантный тип наследования, что не позволяет различать гомо- и гетерозиготы [Вдовиченко и др., 2007];

- Эффект реамплификации - повторная амплификация, ведущая к увеличению количества ампликонов, вследствие изменения условий реакции, например, температуры отжига [Wiesner et al., 2003].

Возможность использования ISSR-метода для оценки разнообразия сортов пшеницы мягкой (*T. aestivum*) была подтверждена в работе Бобошиной и др. [2012]. Метод ISSR- анализа наряду с RAPD применялся также при филогенетическом анализе десяти сортов ржи Португалии и Бразилии [Matos et al., 2001], при котором было изучено 342 ISSR-маркера.

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) - однонуклеотидный полиморфизм

Известно, что однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) лежит в основе возникновения новых аллелей. Высокая плотность и эволюционная стабильность ОНП делают их одним из наиболее удобных генетических маркеров [Азарин, 2012]. SNP- анализ считается одним из наиболее эффективных ДНК-маркеров для выявления внутривидового полиморфизма, что имеет важное значение для генетической паспортизации сортов культурных растений [Калько, 2015]. SNPs почти равномерно распределены по геному и, на основе этого, Мовиссен с соавт. был предложен упомянутый выше тип селекции - **GS** (Genomic Selection - геномная селекция) [Meuwissen et al., 2001]. SNP можно обнаружить с помощью оборудования для DHPLC (Denaturing High Performance Liquid Chromatography – денатурирующая высокоэффективная жидкостная хроматография) или посредством использования микрочипов (SNP-arrays) [Кармен де Висенте и др., 2003].

Микрочип или ДНК-чип (DNA microarray) – миниатюрная пластина с нанесенными на нее в определенном порядке фрагментами одноцепочечной ДНК — ДНК- зондами с известной последовательностью, которые ковалентно пришиты к твёрдому основанию - кремниевой, стеклянной, силиконовой или пластиковой пластине [Калюжный, 2010].

Использование микрочипов предполагает три этапа [Sassanfar et al., 2003]: подготовка ДНК-чипа (или покупка); проведение реакции (выделение

ДНК, подготовка ДНК и гибридизация с ДНК- чипом); сбор и анализ результатов.

Преимущества SNP-array:

- Технология позволяет использовать сравнительно малое количество исходного материала [Баранов, 2009];
- Высокая плотность и эволюционная стабильность [Азарин, 2012];
- ОНП наблюдаются чаще любых других типов полиморфизмов [Кармен де Висенте и др., 2003];
- Высокий уровень информативности [Haseneyer et al., 2011];
- Возможность полной автоматизации анализа [Хлесткина, 2013];
- Возможен одновременный многопараметрический анализ нескольких генов одного объекта исследований [Баранов, 2009];
- Подходят для геномной селекции [Meuwissen et al., 2001];
- SNP располагаются внутри или очень близко к генам интереса [Кармен де Висенте и др., 2003];
- Кодоминантный тип наследования [Хлесткина, 2013; Кондратенко и др., 2015; Калько, 2015].

Недостатки SNP-array [Sassanfar et al., 2003]:

- Слишком большой массив получаемых данных, требуется довольно много времени и трудозатрат для обработки результатов;
- Результаты могут быть не всегда воспроизводимыми или слишком сложными для интерпретации;
- Технология SNP-array остается дорогостоящей.

Методы, основанные на SNP-анализе, характеризуются самым высоким уровнем информативности, так как позволяют одновременно выявлять сотни и даже тысячи ДНК-маркеров. К примеру, технологии ДНК-микрочипов стали основой для определения генотипа ржи с использованием 5234 SNP- маркеров [Haseneyer et al., 2011]. Однако имеются данные, что SNP-маркеры, разработанные и апробированные на основе одних сортов мягкой пшеницы (*T. aestivum*), не подходят для оценки сходства с сортами,

имеющими другое географическое происхождение, а также с другими видами злаков (*Secale cereale*) [Козлова и др., 2009].

Анализ однонуклеотидного полиморфизма 270-ти линий кукурузы украинской селекции позволил сформировать электронную базу данных их генетических паспортов [Сатарова и др., 2013]. Эта база также содержит общедоступную информацию о SNP- паспортах 491 линий кукурузы, и может быть использована для оценки степени новизны созданных линий при селекции, защиты авторских прав на сорта растений, а также для разработки методологических принципов регистрации линий и гибридов кукурузы по аллельному состоянию маркеров однонуклеотидного полиморфизма [Сатарова и др., 2014].

DArT (Diversity Array Technology) - ДНК- чиповая технология для изучения генетического разнообразия

Технология разнородных массивов (DArT) представляет собой маркерную систему на основе микрочипов [Lu et al., 2013]. DArT-технология отличается от SNP тем, что не требует данных о последовательности генома для разработки чипов [Хлесткина, 2013]. Также, как и при SNP-методе, при помощи DArT-array можно одновременно выявлять полиморфизм сразу в нескольких сотнях [Wenzl et al., 2004] и тысячах [Jing et al., 2009] локусах не только у диплоидных растений, но и, например, у гексаплоидной пшеницы (*T aestivum*) [Akbari et al., 2006].

Исследователями из Китая был разработан DArT-чип для табака (*N. tabacum*), который был успешно применен ими для филогенетического анализа 267 культивируемых сортов курительного табака из Китая, Северной и Южной Америки, и других стран [Lu et al., 2013a], а также для составления генетической карты табака [Lu et al., 2013b]. DArT-маркеры могут быть использованы в геномной селекции, что продемонстрировано на примере пшеницы [Charmet, 2012]. Данный метод также применяется при составлении генетических карт и изучении разнообразия, что показано в работе по картированию генома ячменя [Wenzl et al., 2004]. DArT-маркеры

также оказались полезными при мечении гена устойчивости к листовой ржавчине (*LrAeSh1644*) у *Aegilops sharonensis*. Выбранный ген был фланкирован двумя DArT- маркерами, что дает информацию о его хромосомном положении и, таким образом, облегчает передачу этого гена в геном пшеницы для ее улучшения [Olivera et al., 2013].

Проводилось сравнение эффективности DArT-маркеров с AFLP- и SSR-маркерами в генетических картах 93 диплоидных линий гибридов *T. aestivum* 'Arina' и норвежской линии яровой пшеницы NK93604, в результате которого оказалось, что DArT-маркеры дают меньший процент (13,8%) сегрегационного искажения, чем AFLP (24,2%) и SSR (22,6%); DArT показывают самую высокую частоту кластеризации (27%), тогда как у AFLP и SSR эти показатели равны 8,9% и 1,8% соответственно [Semagn et al., 2006]

1.5.2. Селекционный процесс на примере культуры томата

С появлением молекулярно-генетических карт была обоснована экономическая выгода использования тесно сцепленных с генами ДНК-маркёров для косвенной оценки (прогнозирования) будущего фенотипа полученных от скрещивания потомков. Обоснованной оказалась и точность предложенного метода [Beckmann, 1983; Tanksley, 1983]. После этого началось активное использование диагностических ДНК-маркёров в селекционных программах – маркёр-ориентированная селекция, МОС (marker-assisted selection). Успешное распространение такого подхода в селекции связано с двумя преимуществами ДНК-маркёров, по сравнению с предыдущими поколениями маркёров (классическими/«морфологическими» и белковыми): частая встречаемость ДНК-маркёрных локусов в геноме (а, следовательно, возможность подобрать диагностический маркёр к любому хозяйственно значимому гену) и универсальность методов анализа полиморфизма ДНК (а, значит, возможность использовать в селекции быстро развивающиеся и дешевеющие методы анализа ДНК, разрабатываемые для нужд таких передовых социально значимых областей как медицинская гено-диагностика, ДНК-диагностика патогенов человека и

др.). Наиболее популярны ПЦР-маркеры – широкий спектр классов ДНК-маркеров, основанных на использовании доступного, надежного и недорого метода – полимеразной цепной реакции [Хлесткина, 2013].

Выведение новых сортов растений занимает в среднем от 7 до 12 лет. А это означает, что селекционер должен предвидеть потребности сельского хозяйства как минимум на десять лет вперед, и если он ошибется в прогнозах, то его многолетний труд может быть потрачен напрасно, и на исправление ошибки уйдут долгие годы. Поэтому, сейчас для ускорения селекционного процесса у растений, одними из важных направлений рассматриваются так называемые маркер-опосредованная селекция (Marker-Assisted Selection, MAS) [Азарин и др., 2012] и геномная селекция GS (Genomic Selection) [Хлесткина, 2013], в основе которых также лежит исследование ДНК-маркеров. Изучение и сохранение генетических ресурсов культурных растений –ключевой момент устойчивого развития сельского хозяйства любой страны. Потеря таких ресурсов, а как следствие, и генетического разнообразия, является суровой реальностью современности [Кармен де Висенте и др., 2003]. Все экономически развитые страны выделяют большие финансовые средства для сохранения генетических ресурсов как дикорастущей флоры, так и культурных растений. Однако этого пока нельзя сказать про современную Россию, где после распада СССР данному вопросу уделяется недостаточное внимание.

В настоящее время важной составляющей при создании новых сортов культурных растений является их генетическая паспортизация, в основе которой лежит ДНК-фингерпринтирование (DNA fingerprinting) – совокупность методов создания генетических "отпечатков пальцев", основанных на анализе полиморфизма ДНК. В России, как и во всем мире, современные стандарты селекции и семеноводства также предполагают генетическую паспортизацию новых сортов культурных растений. Паспортизация сортов нужна, к примеру, при сертификации и коммерческом распространении семян. Однако методы, лежащие в основе генетической

паспортизации, могут быть успешно применены селекционерами и при селекционной работе, например, для раннего выявления генетических маркеров ценных фенотипических признаков, а также для закрепления и сохранения селекционных достижений. Методы генетической паспортизации также применяются по всему миру в семеноводстве и при проверке закупаемых партий семян на соответствие заявленному сорту, так как случаи мошенничества в этой области встречаются нередко. В России, да и в мире, для паспортизации сортов культурных растений продолжают применять методы электрофоретического определения полиморфизма белков [Смирнова, 2000; Давидчук и др., 2009]. Однако белковые маркеры на сегодняшний день считаются устаревшими из-за большого числа недостатков и их все реже используют при генетическом анализе культурных растений [Хлесткина, 2013]. Более перспективными представляются методы генетической паспортизации сельскохозяйственных растений, основанные на ДНК-маркерах. В течение последних нескольких лет в России также наблюдается переход паспортизации сортов от анализа белкового полиморфизма на систему выявления полиморфных локусов ДНК [Азарин и др., 2012]. К сожалению, в России селекция культурных растений до сих пор чаще всего идет исключительно по фенотипическим признакам, из-за чего тратится много времени для создания новых сортов. Для повышения эффективности селекционной работы и уменьшения необходимого для создания сорта времени представляется актуальным использование современных методов генетического анализа. При умелом сочетании фенотипических и генотипических методов время необходимое для получения новых сортов культурных растений может быть уменьшено в разы.

На рисунке 2 представлен селекционный процесс семеноводческой фирмы, в котором используется метод молекулярного маркирования, исходный материал и полученные гибриды перед продажей проходят обязательный контроль наличия заявленных генов устойчивостей к патогенам в

лаборатории молекулярной диагностики. Используя ПЦР-анализ в реальном времени происходит определения наличия генов и их аллельного состояния.



Рисунок 2 – Пример селекционного процесса культуры томата с интеграцией молекулярного маркирования, Крымск, 2016г. (ориг.).

ГЛАВА 2 УСЛОВИЯ, ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Исходный материал

Для исследования была собрана коллекция гибридов томата F₁ иностранной и отечественной селекции с заявленной устойчивостью к комплексу заболеваний. Отличительной чертой всех собранных гибридов томата F₁ было то, что фирмы-оригинаторы заявили устойчивость или толерантность к возбудителю мучнистой росы. В качестве контролей были выбраны селекционные линии устойчивые к мучнистой росе, имеющиеся в лаборатории пасленовых культур ООО «НИИ Селекции Овощных Культур». Коллекция гибридов томата была представлена селекционными фирмами Enza Zaden, Seminis, Rijk Zwaan, Syngenta, Поиск и Гавриш.

Таблица 3 – Коллекционные гибриды F₁ различных фирм-оригинаторов (ООО «НИИСОК» г. Крымск, 2016г.)

№ п/п	Название образца	Фирма-оригинатор	Страна происхождения
1	F ₁ Ладога	Rijk Zwaan	Нидерланды
2	F ₁ Манагуа	Rijk Zwaan	Нидерланды
3	F ₁ Таймыр	Rijk Zwaan	Нидерланды
4	F ₁ Прунус	Seminis	Нидерланды
5	F ₁ DR 2379	Seminis	Нидерланды
6	F ₁ Форонти	Seminis	Нидерланды
7	F ₁ Физума	Enza Zaden	Нидерланды
8	F ₁ Форенза	Enza Zaden	Нидерланды
9	F ₁ E15B	Enza Zaden	Нидерланды
10	F ₁ Emrero	Syngenta	Швейцария

11	F ₁ Манар	AXIA	Турция
12	F ₁ T-34	Гавриш	Россия
13	F ₁ Коралловый риф	Поиск	Россия
14	F ₁ Океан	Поиск	Россия
15	Линия № 175	ССА «Ильинична»	Россия
16	Линия № 144	ССА «Ильинична»	Россия

Краткое описание гибридов фирмами-оригинаторами:

ТАЙМЫР F1 | ТАУМЫР

Новый высокоурожайный крупноплодный томат. Средняя масса плодов 220-250 г, плоды округлой формы, ровные, не ребристые, без пустот, однородные крупные плоды в кисти. Растения сильные, но достаточно открытые, благодаря сильной макушке гибрид имеет высокую завязываемость даже в жаркие летние месяцы. Кисть не длинная, меньше подвержена заломам. Средний уровень устойчивости к мучнистой росе. Гибрид включён в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации. Устойчивости HR: ToMV:0-2/Ff:A-E/Fol:0,1/For/Si IR:On (ex Ol)

ЛАДОГА F1 | LADOGA

Крупноплодный томат. Ранний, очень урожайный гибрид. Средняя масса плодов 210-230 г, в начале сезона – крупнее, плоды слегка ребристые, плотные, лёжкие. Растение генеративное, но достаточно сильное, довольно длинное, открытое, здоровое, высокая завязываемость плодов. Средний уровень устойчивости к мучнистой росе. Гибрид включён в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации. Устойчивости HR: ToMV:0-2/Ff:A-E/Fol:0,1/For/Sbl/Va:0/Vd:0 IR:On (ex Ol)

МАНАГУА F1 | MANAGUA

Среднеплодный высокоурожайный томат. Средняя масса плодов 160-180 г, плоды плоско-округлые, ровные, плотные, не ребристые. Растение открытое, достаточно сильное, сбалансированное. Листья среднего размера, расположены почти горизонтально. Менее подвержен появлению заломов кисти по сравнению с другими гибридами этого сегмента. Устойчивый к мучнистой росе. Один из самых вкусных в этом сегменте! Гибрид включён в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории Российской Федерации. Устойчивости HR:ToMV:0-2/Ff:A-E/Fol:0,1/For/Va:0/Vd:0/Si; IR:On (ex Ol)

ФИЗУМА F1 | FIZUMA

Тип растения: сильное, полуоткрытое; с междоузлиями средней длины, Расположение листьев: горизонтальное; слегка свисающие листья. Развитие кистей: быстрое. Форма плода: округлая/плоскоокруглая. Размер плода: 200-220 г - при формировании на 4 плода, 160-190 г – без формирования кисти. Плотность плода: очень плотные плоды. Цвет плода: красивый насыщенно-красный. Устойчивость HR: ToMV:0-2/Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol:0,1/For; IR: On

Преимущества: высокая ранняя и общая урожайность, отличное качество плодов, лежкость и транспортабельность, хорошая завязываемость в условиях пониженной освещенности, быстрое развитие и налив кистей, для растения гибрида Физума F1 характерна сбалансированность. Это значит, что растение стабильно, без пропусков формирует урожай и в то же время остается достаточно сильным, имея возможность противостоять стрессам.

ФОРЕНЗА F1 | FORENZA

Тип растения: сильное, сбалансированное растение. Расположение листьев: горизонтальное; слегка свисающие листья. Развитие кистей: быстрое. Форма плода: округлая/плоскоокруглая. Размер плода: 200-220 г. Плотность плода: очень плотные плоды. Цвет плода: привлекающий внимание насыщенно-красный. Устойчивость HR: ToMV:0-2/Ff: A-E/Va:0/Vd:0/Fol:0,1; IR: On/Ma/Mi/Mj

Преимущества: очень ранний гибрид, сбалансированное растение с горизонтальным расположением листьев, высокое качество плодов, лежкость и транспортабельность, для выращивания в продленном обороте на субстратах в отапливаемых теплицах, обладает дополнительной устойчивостью к настоящей мучнистой росе.

ЭМРЕРО F1 | EMRERO

Вес плода 160–170 г, немного приплюснутые и ребристые. Имеют равномерную интенсивную красную окраску. Отличная завязываемость плодов. Раннеспелость и большой общий урожай. Пригодны к механической сортировке. Плоды очень твердые и транспортабельные, идеальны для реализации в супермаркетах. Растение стабильное и сбалансированное на протяжении всего сезона. Открытого типа. Высокая устойчивость к мучнистой росе. Гибрид для выращивания в продленном обороте в стеклянных теплицах. Устойчивости HR: Ff: A–E/Fol: 0–1 (US1–2)/V/Va:0/Vd: 0/TMV: 0/ToMV: 0–2; IR: For/On.

ПРУНУС F1 | PRUNUS

Индетерминантный красный сливовидный томат для кистевого и поштучного сбора. Среднеплодный томат для сбора кистями для свежего рынка. Предназначен для круглогодичного выращивания в остекленных теплицах в продленном обороте на искусственных субстратах. Рекомендуется прививка на подвой. Отличное качество плода. Приятный красный цвет, равномерное созревание без пятен и микрорастрескиваний. Плоды имеют отличный вкус и хороший срок годности. Не чувствителен к корневой гнили. Отзывчивое растение генеративного характера. Масса плода: 90–105 гр. Устойчивость: HR: ToMV:0–2/Fol:0,1/For/Va:0/Vd:0, IR: On.

ФОРОНТИ F1 | FORONTI

Индетерминантный высокоурожайный гибрид БИФ томата с красными плодами до 350г, для свежего рынка, предназначенный для выращивания в остекленных теплицах. Среднеспелый высокоурожайный индетерминантный гибрид БИФ-томата. Предназначен для остекленных

теплиц, для выращивания на светокультуре. Плоды стандартные, в среднем массой летом 220-250 г весом, весной и осенью при нормировке на 4-5 плодов -300-350г, вкус отличный, высокое содержание сахаров. Высокий выход товарной продукции. Плоды плотные: сразу после сбора (в Дюрофель) - 82, через 9 дней 67. Устойчивость HR:ToMV:0-2/Ff:A-E/Fol:0,1/For/Va:0/Vd:0; IR: On

DR2379 F1

Гибрид томата DR2379TH, также известный как 12-XM-FIR-4028, представляет собой разновидность крупноплодного томата для производства в остекленных теплицах в продленном обороте, демонстрирующий плоды с хорошей прочностью, слегка ребристой формой плодов и большим средним весом плодов (280 граммов). DR2379TH имеет комплекс генов устойчивостей к заболеваниям: HR:ToMV:0-2/Ff:A-E/Fol:0,1/For/Va:0/Vd:0 IR: On.

ОКЕАН F1

Индетерминантный гибрид типа БИФ Ранний (90-95 дней). Масса плода 200-240 г. Плод слегка плоско-округлый, гладкий, плотный, по 4-6 штук в кисти. Окраска интенсивная, красная в биологической спелости, светло-зеленая без пятна в технической. Урожайный крупноплодный гибрид, устойчив к стрессовым условиям, к ВТМ, кладоспориозу, фузариозному увяданию, толерантен к мучнистой росе. Рекомендуется для выращивания во всех типах сооружений защищенного грунта.

КОРАЛЛОВЫЙ РИФ F1

Сладкие и сочные томаты для деликатесных салатов. Раннеспелый индетерминантный крупноплодный гибрид для защищенного грунта. Требуется формирования и подвязки. Период от всходов до начала плодоношения 90-95 дней. Плоды слегка плоскоокруглые, гладкие, плотные, массой 300-320 г. Собираются в кисти по 4-6 штук. Окраска интенсивно красная. Гибрид устойчив к стрессовым условиям, к ВТМ, кладоспориозу,

фузариозному увяданию, толерантен к мучнистой росе. Рекомендуется для потребления в свежем виде.

Т 34 F₁

Среднеспелый индетерминантный гибрид, от всходов до созревания 105 - 108 дней. Пригоден для выращивания в зимне-весеннем и летне-осеннем оборотах на грунтах и способом малообъемной технологии. Растение мощное, сильнорослое, лист темно-зеленый среднего размера. Первое соцветие закладывается над 9-10 листом, кисть симметричная, прочная, с 7-8 плодами. Отличается высокой завязываемостью плодов. Плод — сливка, прочный, массой 110 - 130 г., в незрелом состоянии с темно-зеленым пятном у основания, при созревании окраска ярко-красная. Очень высокая однородность плодов по форме и размеру. Устойчив к ВТМ, фузариозу, вертициллезу и нематоде.

Растения второго и последующих поколений, полученные от гибридов F₁, являлись материалом исследования.

2.2 Методы исследований

2.2.1 Фенотипирование растений

Условия выращивания

Исследования проводились в течение 2016-2020 гг на базе тепличного комбината «СЦ Гавриш» в Крымском районе. Тепличный комбинат, включает - это 5,5 га современных полностью автоматизированных теплиц типа «Venlo», оборудованных капельным поливом, системой вентиляции, датчиками температуры и влажности воздуха, лампами ДНАЗ-600, для создания благоприятного светового режима (светокультура). Уровень облучения 9,5–15 тыс. люкс, продолжительность облучения 15 часов в сутки. В качестве грунта используется кокосовый субстрат фирмы Bio Grow и Grodan.



Рисунок 3 – Остекленная теплица СЦ Гавриш, г.Крымск 2017г.

В остекленной отапливаемой теплице проводили исследования коллекции гибридов F_1 , с устойчивостью к мучнистой росе, конкурсное сортоиспытание перспективных селекционных комбинаций, полученных в ходе исследований.

Опыт был заложен на участках, подготовленных по общепринятой агротехнике возделывания томата. Однофакторный опыт был заложен репрезентативно в 3-х повторностях по 8 растений, варианты были размещены в систематическом порядке. На 1 м^2 располагалось 2,25 растения, площадь учетной делянки - $3,6 \text{ м}^2$.

Важным аспектом при изучении новых гибридов было исследование морфологических признаков растений. Исследования и ботанико-морфологическое описание выполнили согласно «Методическим указаниям по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта» (Москва, 1986) и «Методическим указаниям ВИР по изучению и поддержанию мировой коллекции овощных пасленовых культур (томат, баклажаны, перцы)» (ВИР, 1977). При оценке, описании и визуальном отборе растительного материала на селекционном участке учитывали следующие признаки: тип и мощность роста, облиственность, наличие сочленения, форма плода, наличие пятна, размер, однородность и товарные

качества плода, устойчивость к растрескиванию и вершинной гнили, кроме того, определяли массу плода.

Для оценки урожайности проводили учет зрелой продукции, который начинали при появлении первых зрелых плодов томата и далее 1 раз в 7-8 дней, как рекомендовано в нормативных документах ГОСТа. Плоды с каждой повторности варианта собирали в отдельный ящик. В процессе исследования все записи о дате сбора, количестве(шт.) и массе (кг) стандартных и нестандартных плодов производили в селекционный журнал. К стандартным плодам отбирали выполненные плоды, имеющие соответствующую массу по каждому направлению (биф, среднеплодный и т.д.), без признаков болезни и повреждений. После завершения всех сборов проводили необходимые расчеты с помощью пакета Microsoft Office 2013 и программы Statistica 9.0.

Фенологические и биометрические наблюдения, в частности наблюдения над ростом и развитием растений, выполняли систематически, без пропусков, с необходимой точностью по методике государственного сортоиспытания (1983 г.)

Методика искусственного заражения гибридов томата мучнистой росой *O.lycopersici*

Эксперимент проводили в пленочной теплице в летне-осеннем обороте. Растения заражали методом опрыскивания суспензией спор *Oidium lycopersici* из ручного пульверизатора. Оценивали их по шкале поражения (1-4 баллов) [Емелина, Горшкова, Игнатова, Терешонкова, 2010]



Рисунок 4 – Пленочная, грунтовая теплица СЦ Гавриш, г.Крымск 2017г.

В рядах кроме испытываемых гибридов, высаживали неустойчивую линию, которая была не только индикатором успешного заражения, но и становилась очагом распространения инфекции в теплице, для создания наиболее агрессивного инфекционного фона.

Заражение проводили 2 раза: первый раз через неделю после высадки рассады в теплицу и второй раз через три недели после высадки рассады. Этого было достаточно, чтобы буфер со спорами патогена попал на каждое растение, и в конечном итоге был получен агрессивный инфекционный фон.

Для приготовления буфера с пораженных растений отбирали 3-4 листа предпочтительно из среднего яруса. Лист не должен быть старым и белые пятна не должны буреть. В лаборатории с листьев лезвием соскабливали мицелий гриба в чашку с водой или буфером (предпочтительно, но необязательно использовать стерильную воду). Первое опрыскивание проводили с использованием фосфатного буфера, второе раз использовали дистиллированную воду.

Опрыскивание из ручного пульверизатора – трудоемкий процесс, но очень удобный, потому что сразу визуальное можно было оценить попадание

жидкости на листья растений. Оценку проводили спустя 18 дней после инокуляции. Растения оценивали по 4-х бальной шкале:

- 1 балл - нет видимого спороношения (здоровые растения),
- 2 балла - очень малое количество пятен, (споруляция приостановлена),
- 3 балла - умеренное количество пятен (умеренная споруляция),
- 4 балла - очень большое число пятен (сильное спороношение).

Растения, получившие оценку в 1 или 2 балла, были выделены как устойчивые, а получившие - в 3 или 4 балла, восприимчивые. [Moretti, Caranta, 2000].

2.2.2. Генотипирование растений в лаборатории молекулярной диагностики растений

Сбор растительного материала и выделение ДНК

Сбор растительного материала проводился в разные фазы развития растений от рассады до плодоносящего растения. Для отбраковки растений перед посадкой пробы собирали в рассадном отделении, помечая растения специально приготовленными и пронумерованными этикетками, с растений брали семядольные листья. Сбор растительного материала с вегетирующих растений совершался непосредственно в теплице, где собирались молодые побеги растений.

Для сбора растительных проб использовались заранее пронумерованные пробирки объемом 1,5 мл (SSI-1200-00), пластиковые планшеты для них, пинцет, дистиллированная вода и клеенчатые этикетки, пронумерованные аналогично пробиркам. Собранные образцы помещались на хранение в холодильную камеру до выделения ДНК.

Выделение растительной ДНК производилось в лаборатории по методике предложенной Murray and Thompson (1980), доработанной Bernatzky and Tanksley (1986), которая была немного усовершенствована нами для производственных объемов выделения. Для выделения использовались современные приборы:

- Tissue Lyser II (QIAGEN) – для гомогенизации растительных клеток;
- Multi-Vortex V-32 – для перемешивания содержимого в 16 пробирках одновременно;
- Vortex V-1 – для разбития осадка SiO₂ и смешивания его с водой;
- Aspirator FTA-1 – для тщательного удаления из пробирок жидкости;
- Центрифуги SL 8/8R – для стадии центрифугирования;
- Multipette M4 – многофункциональная пипетка (степпер) для ускорения процесса раскапывания реактивов в пробирки.

Для выделения растительной ДНК одного растения использовались следующие химические растворы:

- LiCl – 300 µL;
- SiO₂ – 50 µL;
- NaI – 150 µL;
- Растворы спирта 96% - 75 µL;
- Раствор спирта 70% - 400 µL;
- Раствор Хлороформа и Изоамилового спирта (с=24:1) - 100 µL.

Процесс выделения ДНК

В пробирку к растительному материалу добавляли буфер LiCl и вольфрамовый шарик, после чего с помощью гомогенизатора Tissue Lyser II разрушали ядра растительных клеток. Далее добавляли раствор Хлороформа и Изоамилового спирта в пробирку и перемешивали содержимое на Multi-Vortex V-32. После центрифугировали 5 минут при скорости 14000об/мин. В результате получали в пробирках 2 фракции: в нижней содержались хлоропласты и прочие органеллы, отделенные растительной пробкой. Из верхней части отбирали 100 µL и переносили в чистую пробирку. После этого добавляли в пробирку, последовательно, спирт 96%, SiO₂, NaI. Далее центрифугировали 3 минуты при 6000 об/мин и получали осадок SiO₂ с заключенной в нем растительной ДНК. С помощью Aspirator FTA-1 отбирали из пробирок весь буфер, оставляя только осадок SiO₂ на дне пробирки. После этого добавляли дистиллированную воду и растворяли

данный осадок с помощью Vortex V-1. Далее центрифугировали 5 минут при 14000 об/мин и получали воду с растворенной в ней ДНК, в концентрации ~ 600 нм, которую в дальнейшем разбавляли в соотношении 10 к 100 и использовали для ПЦР-анализа.

Полимеразная цепная реакция

Амплификация и анализ кривых плавления проводился на приборе фирмы Roche - LightCycler 480 II. В ходе исследования применялись маркерные системы, разработанные фирмой Гавриш (таблица 4).

Система гибридизационных зондов (HybProb) состояла из двух праймеров и двух флуоресцентных зондов Anchor и Sensor, которые взаимодействуют по FRET. Объем жидкости для проведения одного анализа составлял 10 мкл: 5 мкл буфера с растительной ДНК и 5 мкл буфера, с химическими реагентами (MgCl₂, dNTP, 10 x Taq Buffer, Dream Taq DNA Polymerase, два праймера и два зонда).

Таблица 4 – Маркер для идентификации гена устойчивости *Tm 2* к вирусу табачной мозаики томата (BTM)

Компонент	Последовательность
Зонд 1	ROX-CTGGTGTTTGGGAGTCTAAACATTTGAGACA-Phosphate
Зонд 2	ACGTAGCCTCATTCAACCTCC-FAM
Прямой праймер	TACATGCTTGTCCATAATCTCTATAAC
Обратный праймер	ATGACTTGCTTACGCTATCTGA

Исследования проводились в 96 луночных планшетах. Условия проведения реакции: денатурация 95°C в течение 10 минут; амплификация (95°C -10 сек; 62°C -15 сек; 72°C - 5 сек) в течение 50 циклов; плавление 95°C - 1 минуту; 42°C - 1 минуту, далее повышение температуры до 95 °C со снятием флуоресценции каждые 0,01 градуса.

Результатом эксперимента было получение графика ярко выраженными пиками на определенных температурах (рисунок 4), при

сравнении с контролями проводился анализ полученного графика и результаты вносились в электронную таблицу.

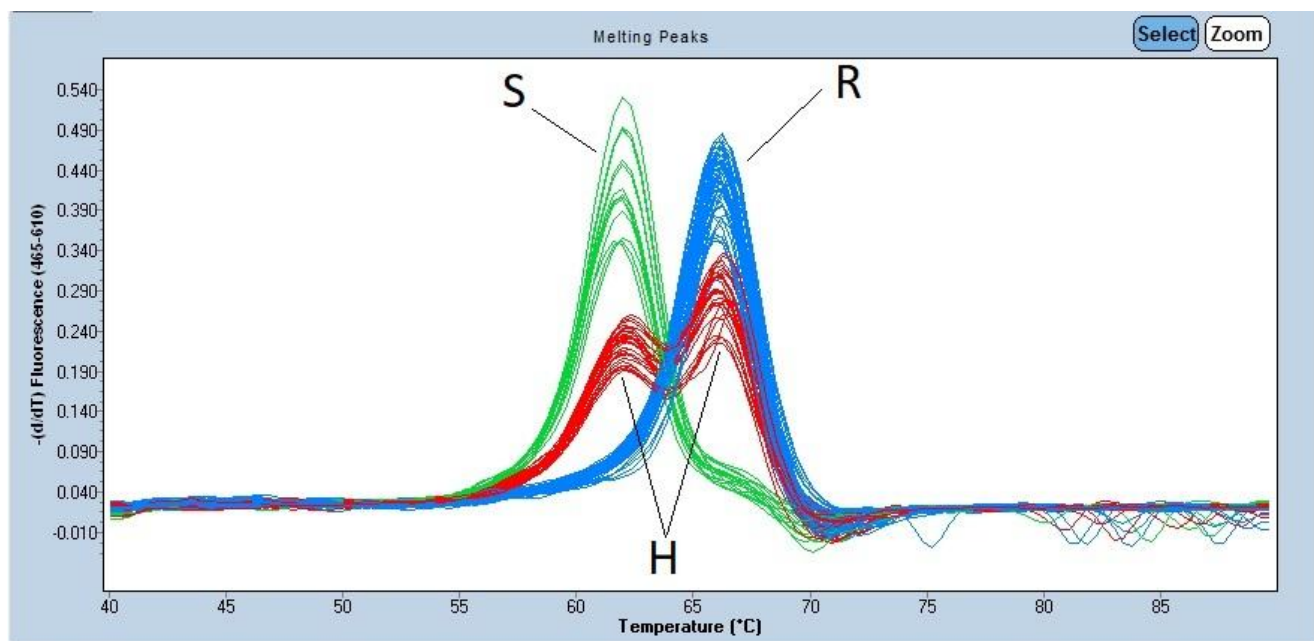


Рисунок 5 – График кривой плавления ПЦР-анализа на наличие генов устойчивости к ВТМ у гибридов томата F₁.

*Устойчивые гомозиготные формы отмечались – R, гетерозиготные формы – H, неустойчивые гомозиготные формы – S.

На томате использовались маркеры для обнаружения генов устойчивости к вирусу табачной мозаики (Tm22), фузариозному увяданию (I²), вертициллезному увяданию (Ve), кладоспориозу (Cf-9), нематодe (Mi1.2), вирусу бронзовости томата (Sw-5), вирусу желтой курчавости листьев томата (Ty-3a).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Исследование коллекции гибридов томата F₁

Результаты фенологических наблюдений и измерений биометрических показателей

В результате фенологических наблюдений, которые проводили ежедневно согласно методическим указаниям, были изучены следующие фенологические показатели коллекции гибридов томата F₁: начало цветения, начало созревания и начало сбора зрелых плодов. Все полученные данные выражены в количестве дней от посева семян до определенной фазы вегетации, обработаны и указаны в таблице 5.

Таблица 5 – Фенологические наблюдения за гибридами томата F₁ (Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2016г.

Гибрид, F ₁	Фирма-оригинатор	До начала цветения, дней	До начала созревания, дней	До начала сбора зрелых плодов, дней
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	51	104	109
F ₁ Manar	AXIA	51	104	109
F ₁ Forenza	Enza Zaden	53	105	111
F ₁ E15B40	Enza Zaden	50	105	110
F ₁ Prunus	Seminis	53	105	110
F ₁ Таумыр	Rijk Zwaan	51	106	113
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	52	107	113
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	51	108	111
F ₁ Океан	Поиск	50	108	113

F ₁ Коралловый риф	Поиск	52	108	114
F ₁ DR2379	Seminis	50	109	113
F ₁ Emrero	Syngenta	51	109	115
F ₁ Foronti	Seminis	52	112	119
№ 144/14	Линия (контроль)	53	113	119
№ 175/14	Линия (контроль)	59	113	119
F ₁ T-34	Гавриш	58	113	119

Из результатов, представленных в таблице 5, видно, что в среднем у гибридов томата от посева до отдачи первого урожая прошло 113 дней, с более ранней отдачей урожая отмечены гибриды F₁ Ladoga, F₁ Manar на 109 день уже были отмечены полностью зрелые плоды; также были отмечены гибриды с более поздней отдачей урожая F₁ Foronti – только на 119 день плоды томата созрели.

Таблица 6 – Биометрические показатели гибридов томата F₁ (Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2016г.

Гибрид, F ₁	Фирма-оригинатор	Длина листа, см	Диаметр стебля над цветущим соцветием, см	Длина соцветия, см	Длина междоузлия, см
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	48,9	1,2	20,4	18,9
F ₁ Manar	AXIA	46,2	1,0	18,9	18,2
F ₁ Forenza	Enza Zaden	46,7	1,3	17,0	15,4
F ₁ E15B40	Enza Zaden	49,3	1,2	14,3	15,2

F ₁ Prunus	Seminis	50,6	1,3	24,9	21,0
F ₁ Taymyr	Rijk Zwaan	45,8	1,0	18,2	19,4
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	46,0	1,1	17,6	18,3
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	49,0	1,2	16,1	16,2
F ₁ Океан	Поиск	51,2	1,1	15,6	15,4
F ₁ Коралловый риф	Поиск	48,2	1,2	15,4	15,4
F ₁ DR2379	Seminis	51,8	1,1	15,5	16,5
F ₁ Emrero	Syngenta	45,7	1,2	14,6	15,9
F ₁ Foronti	Seminis	47,3	1,1	15,8	16,9
F ₁ T-34	Гавриш	49,6	1,2	24,7	21,5
№ 144/14	Линия (контроль)	45,4	1,2	10,4	11,8
№ 175/14	Линия (контроль)	46,3	1,1	15,3	15,6

Анализируя данные таблицы 6, было отмечено, что устойчивая к мучнистой росе линия №144/14 имеет самые низкие показатели длины листа, междоузлия и кисти. Самые высокие показатели длины листа отмечены у гибрида F₁ DR2379, а самые высокие показатели длины кисти и междоузлия у гибрида F₁ Prunus. Показатель диаметра стебля над цветущей кистью у всех образцов отмечен в диапазоне от 1,0 до 1,3 см.

После начала сбора зрелых плодов гибридов томата проводили учет урожая согласно методическим указаниям для световой зоны выращивания каждые 8-9 дней. Данные полученные в результате учета урожая указаны в таблице 7.

Таблица 7 – Урожайность гибридов томата F₁ (Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2016г.

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Средняя масса плода, гр	Выход стандартной продукции, %	Урожайность, кг/м ²
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	200	83,5	13,29
F ₁ Таймыр	Rijk Zwaan	230	91,0	13,13
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	171	81,2	11,27
F ₁ E15B40	Enza Zaden	235	85,7	11,17
F ₁ Океан	Поиск	169	83,8	11,17
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	161	76,3	11,15
F ₁ DR2379	Seminis	213	89,4	10,98
F ₁ Manar	AXIA	142	83,6	10,80
F ₁ Forenza	Enza Zaden	200	81,1	10,61
F ₁ Коралловый риф	Поиск	181	84,8	10,57
F ₁ Foronti	Seminis	220	88,2	10,49
F ₁ Prunus	Seminis	96	84,8	9,50
F ₁ Emrero	Syngenta	183	88,7	9,11
F ₁ T-34	Гавриш	98	85,6	7,2
№ 144/14	Линия (контроль)	199	85,5	7,11
№ 175/14	Линия	121	70,1	6,84

	(контроль)			
НСР05				0,8

По результатам учета урожайности гибридов томата наибольшую урожайность с м² показал гибрид F₁ Ladoga фирмы Rijk Zwaan, другой гибрид этой фирмы F₁ Таумуг показал результат урожайности чуть меньше, но при этом выход стандартной продукции и средняя масса плода у него выше. Наибольшая средняя масса плода отмечена у гибрида F₁ E15B40 – 235 г. Обе контрольные линии показали урожайность меньше чем у гибридов, что в свою очередь доказывает преимущество гетерозисных гибридов над сортами томата.

Результаты исследования генотипов коллекции гибридов томата F₁

Молекулярную диагностику гибридов томата проводили по 8 генам устойчивости к различным патогенам: вирус табачной мозаики (*Tm22*), вертициллезное увядание (*Ve*), фузариозное увядание (*I*²; *I*³), бурая пятнистость (*Cf-9*), нематода (*Mi 1.2*), вирус желтого скручивания листьев томата (*Ty-3a*), вирус бронзовости томата (*Sw-5*). В результате исследования во всех образцах отсутствовали гены устойчивости *Ty-3a*, *Sw-5* и *I*³, результаты состояния генов устойчивости по другим генам устойчивости приведены в таблице 8. Условные обозначения, указанные в таблице: *R* – наличие гена устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* – наличие гена устойчивости в гетерозиготном состоянии; *S* – отсутствие гена устойчивости.

Таблица 8 – Состояние генов устойчивости у гибридов томата F₁. (лаборатория молекулярной диагностики ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2016г

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Tm2.2	Ve	I ²	Mi1.2	Cf-9
№ 144/14	Линия (контроль)	S	S	R	R	S
№ 175/14	Линия (контроль)	R	R	R	S	S

F ₁ Taymyr	Rijk Zwaan	R	S	R	S	H
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	R	R	R	S	H
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	R	H	R	S	H
F ₁ Forenza	Enza Zaden	H	H	R	H	H
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	H	H	R	S	R
F ₁ Foronti	Seminis	R	H	R	S	R
F ₁ E15B40	Enza Zaden	H	H	R	S	H
F ₁ DR2379	Seminis	H	H	R	S	R
F ₁ Emrero	Syngenta	R	R	R	S	H
F ₁ Океан	Поиск	H	H	R	S	S
F ₁ Кораловый риф	Поиск	H	H	R	S	R
F ₁ Manar	AXIA	H	H	H	S	R
F ₁ T-34	Гавриш	R	R	R	R	S
F ₁ Prunus	Seminis	R	H	H	S	S

На основании данных, представленных в таблице 8 можно сделать вывод, во всех гибридах имеются гены устойчивости к вирусу табачной мозаики, фузариозному увяданию и вертициллезу, многие гибрид так же имеют ген устойчивости к кладоспориозу. Стоит отметить, что фирмы-оригинаторы, скрещивая родительские формы, стремятся получить гетерозиготное состояние генов устойчивости. Предположительно это делается для уменьшения различных плеiotропных эффектов, которые могут отражаться на фенотипе растения. Так же замечено, что гибрид F₁ Океан не имеет ген устойчивости к кладоспориозу, хотя фирма-оригинатор заявляет, что гибрид устойчив к этому патогену. В остальных случаях результаты генетического анализа подтвердили заявленное описание устойчивостей гибридов.

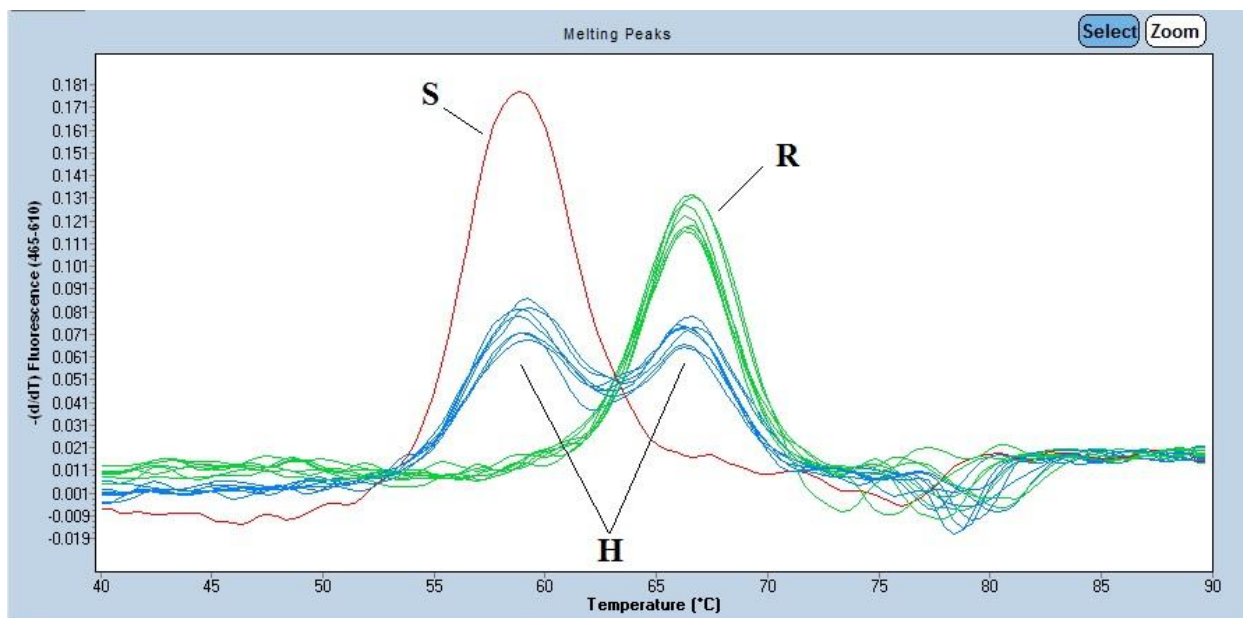


Рисунок 6 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости BTM у растений F_1 с использованием гибридизационных зондов Real-time PCR: *R* – наличие гена устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* – наличие гена устойчивости в гетерозиготном состоянии; *S* – отсутствие гена устойчивости.

Графики результатов исследования генотипа коллекционных образцов томата F_1 , на наличие генов устойчивостей к другим заболеваниям приведены в приложении.

Результаты исследования коллекции гибридов томата F_1 на устойчивость к мучнистой росе методом искусственного заражения.

Исследование коллекции гибридов томата F_1 на устойчивость к мучнистой росе проводили в пленочной отапливаемой теплице. Растения заражали методом опрыскивания суспензией спор *Oidium lycopersici*. Растения были протестированы по шкале поражения (1-4 баллов) (Емелинаиа М.Н., Горшкова И.С, Игнатова С.И., Терешонкова Т.А. 2010).



Рисунок 7– Исследование под микроскопом свежеприготовленного буфера на наличие конидий возбудителя мучнистой росы *O. lycopersici* (лаборатория молекулярной диагностики ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2017г

Оценку проводили спустя 18 дней после инокуляции. Растения оценивали следующим образом:

- 1 балл - нет видимого спороношения (здоровые растения),
- 2 балла - очень малое количество пятен, (споруляция приостановлена),
- 3 балла - умеренное количество пятен (умеренная споруляция),
- 4 балла - очень большое число пятен (сильное спороношение).

Растения, получившие балл 0 или 1 были рассмотрены как устойчивые и растения, получившие балл 2 или 3, восприимчивы. (Moretti A., Caranta C., 2000)

Искусственное заражение провели успешно, на что указали контрольные линии, посаженные между испытуемыми гибридами томата. Неустойчивая контрольная линия № 175/14 набрала максимальный бал

поражения, устойчивая контрольная линия № 144/14 набрала минимальный балл. Все испытываемые гибриды томата F₁ разделились на 2 основных группы: у первой группы, получившей оценку 1 балл, за весь период наблюдений на листьях отмечали образование только некротических точек; у второй группы, получившей оценку 2 балла, кроме некротических точек, также отмечали редкие пятна белого спороношения, которые переходили в некротические пятна. Два гибрида томата F₁ Океан и F₁ Manar получили оценку 3 балла, на листьях растений постоянно отмечали белое спороношение, которое занимало более 20-30% листовой поверхности. Подробные результаты испытания указаны в таблице 9.

Таблица 9 – Оценка поражения гибридов томата F₁ мучнистой росой *O. lycopersici* (пленочная теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2017г

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Оценка поражения, балл
№ 175/14	Линия (контроль)	4
F ₁ Океан	Поиск	3
F ₁ Manar	AXIA	3
F ₁ Таумур	Rijk Zwaan	2
F ₁ Коралловый риф	Поиск	2
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	2
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	2
F ₁ Forenza	Enza Zaden	2
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	2
F ₁ T-34	Гавриш	1
F ₁ Prunus	Seminis	1

F ₁ Foronti	Seminis	1
F ₁ E15B40	Enza Zaden	1
F ₁ DR2379	Seminis	1
№ 144/14	Линия (контроль)	1

В испытательной теплице был создан агрессивный фон при искусственном заражении, и определить устойчивое или неустойчивое растение визуально было нетрудно (рисунок 7).



Рисунок 8 – Оценка поражения гибридов томата F₁ мучнистой росой *O. lycopersici*, листья левого растения обильно покрыты белым налетом, в то время как листья правого растения абсолютно чистые (пленочная теплица ООО «НИИСОК», г. Крымск), 2017г

Результаты исследования коллекции гибридов томата F₁ на содержание сухих веществ

Для определения биохимического состава плодов томата, с каждой учетной делянки были собраны полностью созревшие плоды от 6 до 15 штук, чтобы общая масса была ~1,5 кг. Собранные плоды были отправлены в лабораторию биохимии ГосКомиссии на базе ВНИИМК г. Краснодар.

Таблица 10 – Результаты биохимического анализа плодов коллекционных образцов гибридов томата F₁.

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Сухо е в- во, %	Сахар общ, %	Кислот ность, %	pH	Витам ин С, мг	Нитр аты, мг/кг
№ 144/14	Линия (контроль)	5	2,2	0,36	5,2	13,5	168,7
№ 175/14	Линия (контроль)	5,9	2,3	0,54	5,1	13,3	165,5
F ₁ Taymyr	Rijk Zwaan	5,3	2,2	0,41	5,1	17,7	190,4
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	6,2	2,5	0,54	5,2	11	165,8
F ₁ Ladoga	Rijk Zwaan	5,1	2	0,35	5,1	11,4	166,7
F ₁ Forenza	Enza Zaden	5	2	0,38	5,2	12,1	210
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	5	2,2	0,36	5,2	12,5	168,5
F ₁ Foronti	Seminis	5,2	2,2	0,53	5,2	12,3	180,9
F ₁ E15B40	Enza Zaden	5,2	2,2	0,4	5,2	6,9	210
F ₁ DR2379	Seminis	5,3	2	0,4	5,1	12,9	195,5
F ₁ Emrero	Syngenta	5,3	1,9	0,48	5,3	9,1	178,8
F ₁ Океан	Поиск	4,4	1,7	0,42	5,2	8	200,4
F ₁ Коралловый	Поиск	5,3	2,1	0,44	5,2	13,2	194,4

риф							
F ₁ Manar	AXIA	4,6	1,7	0,39	5	7,8	238,5
F ₁ T-34	Гавриш	6,8	2,8	0,38	5,2	14,1	168,4
F ₁ Prunus	Seminis	5,4	2,1	0,5	5,3	13,9	220,7

Проанализировав полученные данные, отметили, что среднее содержание сухих веществ составляет 5,2 % по отношению к сырому веществу, при этом наибольшее содержание сухого вещества было отмечено у гибрида F₁ Managua – 6,2%. Среднее содержание сахара составило 2,1%, наибольшее содержание сахара было также отмечено у гибрида F₁ Managua – 2,5%. Средний показатель pH составил 5,2, что считается слабокислой средой, при этом средняя кислотность составила 0,4%. Среднее содержание нитратов в плодах 187,7 мг/кг, при этом самое высокое содержание нитратов отмечено у плодов гибрида F₁ Manar – 238,5 мг/кг, что ниже нормы ПДК (300 мг/кг). Наибольшее содержание витамина «С» отмечено у гибрида F₁ Таумуг – 17,7 мг, при этом среднее содержание составило 11,5 мг.

3.2. Апробация молекулярного маркера гена устойчивости к вирусу табачной мозаики (ВТМ) у культуры томата

Во время исследования коллекционных образцов томата была проведена проверка данных полученных при генетическом анализе. Был заложен опыт с искусственным заражением растений томата вирусом табачной мозаики (*Tomato mosaic tobamovirus*).

Искусственное заражение растений проводили в рассадном отделении свежеприготовленным инокулюмом. Растения заражали методом повреждения листовой пластинки и нанесением суспензии. Оценку устойчивости образцов томата к ВТМ проводили на искусственном инфекционном фоне по общепринятой методике (Квасников, Игнатова и др., 1984)

В опыте исследовали 8 гибридов томата F₁ и 2 линии, используемые в качестве контроля. По результатам генетического анализа с применением

маркера гена устойчивости к ВТМ было выявлено, что все гибриды и одна контрольная линия № 175/14 имеют в своем генотипе ген устойчивости, также анализ показал точно показал аллельное состояние гена. Отсутствие гена устойчивости в контрольной линии № 144/14 было подтверждено. После визуальной оценки искусственного заражения растений томата вирусом табачной мозаики было определено, что растения всех гибридов и контрольной линии № 175/14, обладают устойчивостью, в свою очередь на растениях линии № 144/14 наблюдали признаки поражения вирусом табачной мозаики. Все результаты представлены в таблице 11. На рисунке 9 представлен график кривой плавления, полученный при генетическом анализе растений. Условные обозначения, указанные в таблице и на рисунке: *R* – наличие гена устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* - наличие гена устойчивости в гетерозиготном состоянии; *S* – отсутствие гена устойчивости.

Таблица 11 – Результаты генетической и визуальной оценки гибридов томата F₁. (ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2016г

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Результат генетического анализа	Результат искусственного заражения
№ 144/14	Линия (контроль)	S	неустойчив
№ 175/14	Линия (контроль)	R	устойчив
F ₁ Таумир	Rijk Zwaan	R	устойчив
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	R	устойчив
F ₁ Forenza	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ Foronti	Seminis	R	устойчив

F ₁ E15B40	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ DR2379	Seminis	H	устойчив
F ₁ Emrero	Syngenta	R	устойчив

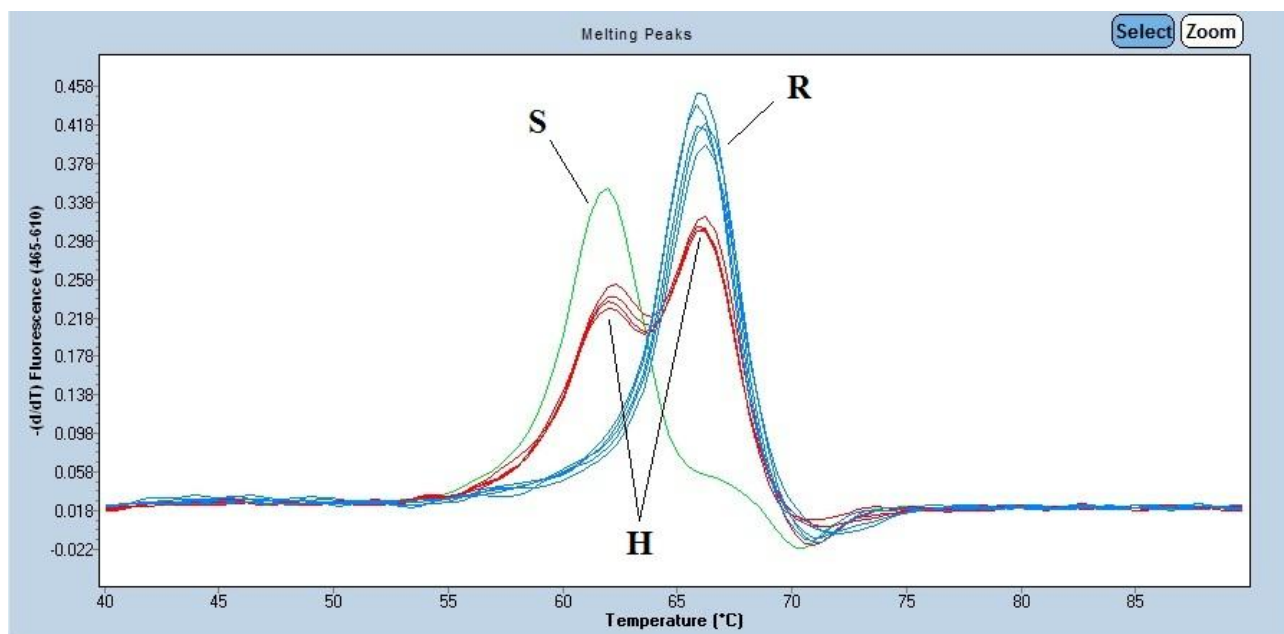


Рисунок 9 – График кривой плавления, полученный в результате ПЦР-анализа растений на маркер гена устойчивости к ВТМ у гибридов томата F₁.

Анализируя результаты, полученные в ходе исследования коллекционных гибридов томата F₁, были отобраны 3 гибрида с гетерозиготным состоянием гена устойчивости: F₁ Fizuma (Enza Zaden), F₁ E15B40 (Enza Zaden), F₁ DR2379 (Seminis), 2 гибрида – в гомозиготном состоянии: F₁ Таумуг (Rijk Zwaan), F₁ Foronti (Seminis) и 2 контрольных линии. С отобранных растений были взяты зрелые плоды и получены семена второго поколения.

Потомство гибридов первого поколения, у которых было диагностировано гомозиготное состояние гена устойчивости к вирусу табачной мозаики, были посеяны с расчетом 50 растений к высадке; образцы с гетерозиготным состоянием гена устойчивости - по 100 растений.

Диагностика растений второго поколения была проведена в стадии семядолей, т.е. на самых ранних сроках (14 дней после посева). Результаты ПЦР-анализа второго поколения гибридов томата показали, что потомство гибридов F₁ Fizuma, F₁ E15B40, F₁ DR2379 разделились на устойчивые гомозиготы, неустойчивые гомозиготы и гетерозиготы, что доказало точность первичного результата анализа на стадии F₁. Результаты других взятых образцов были однородные, что также указывает на точность анализа. Подробные результаты представлены в таблице 12. Условные обозначения, указанные в таблице: *R* – ген устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* – ген устойчивости в гетерозиготном состоянии; *S* – отсутствие гена устойчивости.

Таблица 12 – Результаты исследования генотипа гибридов томата поколения F₂. (ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2017г

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Результат генетического анализа, растений			
		R	H	S	Всего растений
№ 144/14	Линия (контроль)	0	0	50	50
№ 175/14	Линия (контроль)	50	0	0	50
F ₂ Taymyr	Rijk Zwaan	50	0	0	50
F ₂ Fizuma	Enza Zaden	27	48	21	100
F ₂ Foronti	Seminis	50	0	0	50
F ₂ E15B40	Enza Zaden	26	54	24	100
F ₂ DR2379	Seminis	26	48	28	100

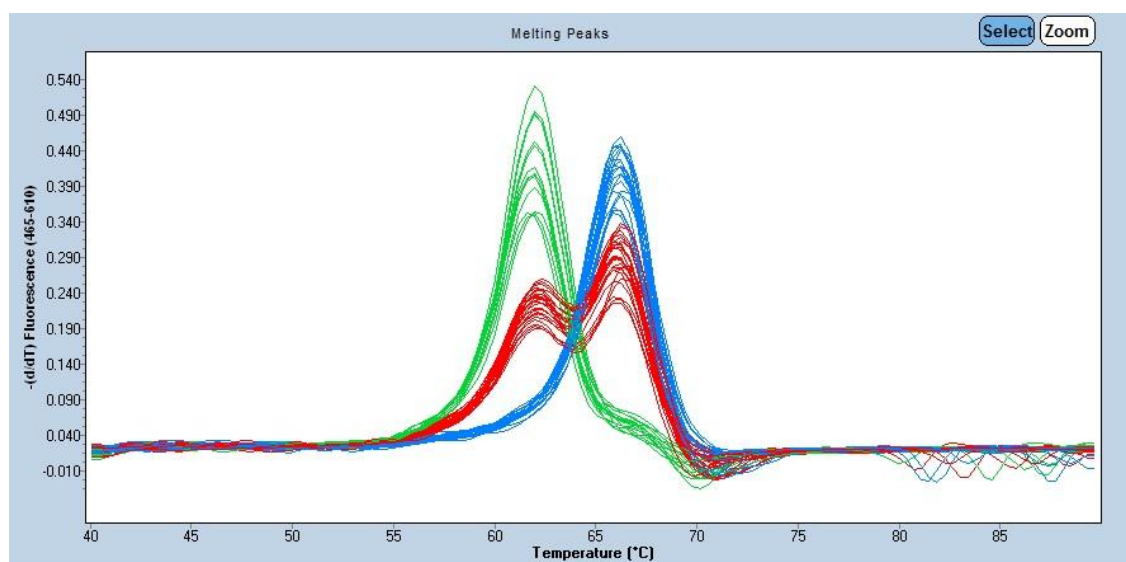


Рисунок 10 – – График кривой плавления, полученный в результате исследования генотипа 96 растений второго поколения гибрида F₁ Fizuma

Установлено, что наследование гена устойчивости к вирусу табачной мозаики у растений второго поколения у каждого исследуемого образца стремилось к пропорции 1:2:1, основываясь законами Г.Менделя, подтверждено, что состояние гена устойчивости в гибридах первого поколения было гетерозиготным. Гомозиготное состояние гена было унаследовано растениями второго поколения в том же состоянии, что и у родительских форм.

После искусственного заражения всех растений в рассадном отделении, была проведена визуальная оценка в теплице. Результаты оценки представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Визуальная оценка искусственного заражения растений томата второго поколения. (ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2017г

Гибрид, F ₁	Фирма оригинатор	Результат визуальной оценки, растений		
		устойчивые	неустойчивые	всего
№ 144/14	Линия (контроль)	0	50	50
№ 175/14	Линия (контроль)	50	0	50
F ₂ Таумыр	Rijk Zwaan	50	0	50

F ₂ Fizuma	Enza Zaden	79	21	100
F ₂ Foronti	Seminis	50	0	50
F ₂ E15B40	Enza Zaden	76	24	100
F ₂ DR2379	Seminis	72	28	100

Из таблицы 13 видно, что в потомстве неустойчивой линии поразились все растения, в то время как, растения устойчивой линии и гибридов F₂ Таумыр, F₂ Foronti не поразились патогеном. В свою очередь на делянках с растениями F₂ Fizuma, F₂ E15B40, F₂ DR2379 было отмечено, что отношение числа устойчивых растений к числу неустойчивых стремится к пропорции 3:1, что характерно для наследования доминантного гена у поколения F₂.

Анализируя полученные данные сделан вывод, что результаты искусственного заражения подтвердили результаты, полученные при ПЦР-анализе. При этом с помощью генетического исследования можно быстро и точно определить аллельное состояние гена в растении, что является невозможным при традиционном искусственном заражении, так как между растениями с гетерозиготным и гомозиготным состоянием гена визуальных отличий найдено не было. Созданный маркер и методику ПЦР-анализа можно рекомендовать для широкого применения в селекционном процессе культуры томата.

3.3. Модель современного гибрида томата F₁ для выращивания в зимних остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания и без него.

В ходе изучения коллекционных гибридов томата F₁ было установлено, что современная модель гибрида томата F₁ для выращивания в зимних остекленных теплицах должна обладать следующими признаками: индетерминантный тип роста со сближенными междоузлиями, раннего и среднего срока созревания, простой тип соцветия с 4-5 плодами, если плоды средней массой больше 250 грамм; с 6-7 плодами массой от 140 до 180 грамм для сбора кистями. Необходима высокая прочность плодов с отсутствием

концентрического и радиального растрескиваний, подходящих для транспортировок на дальние расстояния. В генотипе современной модели гибрида кроме устойчивости к мучнистой росе томата (*Oidium lycopersici*) необходимо наличие комплекса генов устойчивостей к таким заболеваниям, как вирус табачной мозаики (*Tomato mosaic tobamovirus*), фузариозное увядание томата (*Fusarium oxysporum*), вертициллезное увядание томата (*Verticillium albo-atrum*), бурая пятнистость томата (*Cladosporium fulvum*). Также желательно наличие гена устойчивости к вирусу желтой курчавости листьев томата (*Tomato yellow leaf curl virus*) и галловой нематоды (*Meloidogyne incognita*).

Для выращивания в условиях искусственного досвечивания, с нашей точки зрения, необходимо обязательно учитывать, что рост растений у гибридов томата должен быть непрерывным, и по возможности равномерным в течение всего периода вегетации. Высокие требования к качеству плодов гибрида томата, рекомендуемых для выращивания методом светокультуры. Плоды должны быть устойчивыми к растрескиванию, с яркой и равномерной окраской при созревании, прочными и выровненными плодами по размеру в кисти, а также обладать гармоничным вкусом. Гибрид томата F₁ должен хорошо расти при уровне освещенности в 15 000 люкс.

Таблица 14 – Разработанная модель современного гибрида томата F₁ для выращивания в защищенном грунте с применением искусственного досвечивания и без него.

№ п/п	Признак	Характеристики		
		Крупноплодные томаты	Сливовидные томаты	Кистевые томаты
1.	Масса плода, г	250-300	80-120	140-180
2.	Урожайность, кг/м ²	80	70-75	85

3.	Тип роста	Индетерминантный, с сближенными междоузлиями		
4.	Сила роста	Полувегетативный, полугенеративный		
5.	Габитус	открытый, сильно облиственный		
6.	Срок созревания	средний	ранний, среднеранний	Средний, среднеранний
7.	Тип соцветия	простое	простое	простое, двустороннее
8.	Число цветков в соцветии, шт	4-5	6-8	5-7
9.	Число плодоносящих соцветий, шт	10-12		
10.	Форма плода	округлая, плоскоокруглая	Овальная, яйцевидная	округлая
11.	Окраска плода	ярко-красная, равномерная		
12.	Наличие зеленого пятна	нет или размытое	отсутствует	
13.	Однородность плодов	не менее 70 % плодов с массой, указанной выше		
14.	Прочность плодов	высокая		
15.	Способ уборки	с чашечкой	соцветиями, штучно	соцветиями
16.	Наличие сочленения	есть	нет	нет
17.	Размер пестичного рубца	не более 4 мм	отсутствует	не более 1-2 мм
18.	Устойчивость	Обязательно: ВТМ, фузариозное и вертициллезное увядания, кладоспориоз, мучнистая роса Желательно: нематода, вирус бронзовости, вирус желтой курчавости листьев томата		

3.4. Результаты исследования растений второго поколения, полученных из коллекционного материала

Изучение поколения F₂ с помощью молекулярно-генетического анализа

Проанализировав данные полученные при учете фенологических и биометрических показателей, а также полученных данных из лаборатории молекулярной диагностики растений и искусственного заражения растений, для дальнейшей работы были отобраны генотипы F₁ Таумуг (Rijk Zwaan), F₁ Managua (Rijk Zwaan), F₁ Ladoga (Rijk Zwaan), F₁ Foronti (Seminis), F₁ Коралловый риф (Поиск).

Был проведен общий сбор плодов с испытуемых делянок и заготовлены семена для исследования поколения F₂. В рассадном отделении было посеяно по 300 семян образцов F₂ Ladoga и F₂ Коралловый риф, так как у них было диагностировано по 2 интересующих гена устойчивости в гетерозиготном состоянии; по 200 семян F₂ Таумуг, F₂ Managua, F₂ Foronti – образцы с 1 интересующим геном устойчивости в гетерозиготном состоянии. Посеянный материал отличался неравномерной всхожестью семян: F₂ Таумуг и F₂ Managua – 96%, F₂ Ladoga – 93%, F₂ Foronti – 90%, F₂ Коралловый риф – 88%.

С каждого взошедшего сеянца на стадии семядольных листьев был отобран растительный материал для ПЦР-анализа, при этом каждое растение было пронумеровано для последующей отбраковки.

Таблица 15 – Результаты молекулярно-генетического анализа поколения F₂ изучаемых образцов томата (лаборатория молекулярной диагностики растений ООО «НИИСОК» г. Крымск), 2017г.

Ген	Состояние	Образец F ₂
-----	-----------	------------------------

		Taymyr	Ladoga	Managua	Foronti	Коралло вый риф
Tm22	H, %	0,0	0,0	0,0	0,0	49,2
	R, %	100,0	100,0	100,0	100,0	23,5
	S, %	0,0	0,0	0,0	0,0	27,3
Ve	H, %	0,0	47,1	0,0	48,9	51,9
	R, %	0,0	25,8	100,0	28,9	25,8
	S, %	100,0	27,1	0,0	22,2	22,3
Cf-9	H, %	52,6	53,4	43,2	0,0	0,0
	R, %	25,0	26,9	29,1	100,0	100,0
	S, %	22,4	19,7	27,7	0,0	0,0
I ²	H, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	R, %	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
	S, %	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Молекулярно-генетический анализ поколения F₂ подтвердил результаты анализов, проведенных на гибридах F₁. Расщепление в образцах всех генов устойчивостей, которые были диагностированы в гетерозиготном состоянии, стремилось к пропорции 1:2:1.

После анализа полученных данных для дальнейшего исследования были отобраны растения с гомозиготным состоянием интересующего гена устойчивости. Таким образом для высадки в теплицу было отобрано 48 растений образца F₂ Taymyr, 56 растений - F₂ Managua, 52 растения - F₂ Foronti, 56 растений - F₂ Ladoga, 51 растение - F₂ Коралловый риф.

Изучение поколения F₂ на устойчивость к мучнистой росе методом искусственного заражения.

Исследование растений поколения F₂ проводили также, как и исследование коллекции гибридов томата F₁ на устойчивость к мучнистой росе проводили в пленочной отапливаемой теплице. Растения заражали методом опрыскивания суспензией спор *Oidium lycopersici*. Растения были протестированы по шкале поражения (1-4 баллов).

Таблица 16 – Исследование растений поколения F₂ на устойчивость к мучнистой росе (пленочная теплица ООО «НИИСОК»), 2017г

Название	Всего высажено растений	Пораженных растений			Количество отборов
		1 балл	2 балла	3-4 балла	
F ₂ Таумуг	48	0	16	32	7
F ₂ Коралловый риф	51	0	15	36	8
F ₂ Managua	56	0	18	38	11
F ₂ Ladoga	56	0	16	40	9
F ₂ Foronti	52	45	0	7	23
ОБЩЕЕ:	263	45	65	153	58

По результатам искусственного заражения было сделано 58 отборов растений, которые показали визуальную устойчивость к заражению мучнистой росой, а также обладали хозяйственно-ценные признаками.

Было отмечено, что потомство гибрида F₁ Foronti (Seminis) имеет устойчивость к мучнистой росе отличную от других образцов. На устойчивых растениях этого генотипа отмечались лишь редко встречаемые некротические пятна, в то время как на устойчивых растениях других генотипов,

отмечались единичные белые пятна, которые быстро переходили в некроз. Исходя из того, что в поколении F₂ было больше устойчивых растений, автором было предположено, что ген устойчивости к мучнистой росе у гибрида F₁ Foronti (Seminis) доминантный.

После получения семян, каждый отбор был посеян в количестве 40 штук, для определения состояния гена устойчивости к мучнистой росе. В результате было выделено и рекомендовано для гибридизации 4 отбора F₂ Таумуг, 3 отбора F₂ Коралловый риф, 6 отборов F₂ Managua, 4 отбора F₂ Ladoga и 6 отборов F₂ Foronti.

Таблица 17 – Отобранные образцы томата по генетически ценным признакам (лаборатория молекулярной диагностики растений ООО «НИИСОК» г. Крымск), 2018г.

№ п/п	Образец F ₃	Tm22	Ve	I ²	Cf-9	Мучнистая роса
1.	Таумуг -11	R	S	R	R	устойчив
2.	Таумуг -31	R	S	R	R	устойчив
3.	Таумуг -51	R	S	R	R	устойчив
4.	Таумуг -71	R	S	R	R	устойчив
5.	Коралловый риф - 11	R	R	R	R	устойчив
6.	Коралловый риф - 41	R	R	R	R	устойчив
7.	Коралловый риф - 61	R	R	R	R	устойчив
8.	Managua -21	R	R	R	R	устойчив
9.	Managua -41	R	R	R	R	устойчив

№ п/п	Образец F ₃	Tm22	Ve	I ²	Cf-9	Мучнистая роса
10.	Managua -51	R	R	R	R	устойчив
11.	Managua -61	R	R	R	R	устойчив
12.	Managua -91	R	R	R	R	устойчив
13.	Managua -111	R	R	R	R	устойчив
14.	Ladoga -21	R	R	R	R	устойчив
15.	Ladoga -31	R	R	R	R	устойчив
16.	Ladoga -71	R	R	R	R	устойчив
17.	Ladoga -91	R	R	R	R	устойчив
18.	Foronti -21	R	R	R	R	устойчив
19.	Foronti -41	R	R	R	R	устойчив
20.	Foronti -61	R	R	R	R	устойчив
21.	Foronti -121	R	R	R	R	устойчив
22.	Foronti -151	R	R	R	R	устойчив
23.	Foronti -211	R	R	R	R	устойчив

Полученные образцы являются ценным исходным материалом при создании гибридов томата для выращивания в остекленных теплицах Российской Федерации.

3.5. Создание новых перспективных комбинаций

Для получения новых перспективных комбинаций была разработана гибридизационная сетка, которая включала в себя полученные новые линии, а также линии, обладающие высокими показателями хозяйственно-ценных

признаков, которые были предоставлены лабораторией пасленовых культур ООО «НИИСОК».

Современный рынок требует разнообразия продукции, поэтому гибридизация велась в трех направлениях: крупноплодный гибрид, кистевой гибрид и гибрид с сливовидной формой плода. Подробная информация по модели гибрида указана в таблице 11.

Всего было создано 253 селекционные комбинации, которые были высажены на участке первичного сортоиспытания, для визуальной оценки хозяйственно-ценных признаков. Для направления крупноплодного гибрида томата было выделено 11 селекционных комбинаций, для кистевого гибрида – 7 комбинаций, для гибрида с сливовидной формой плодов – 4 комбинации.

3.6. Конкурсное сортоиспытание выделившихся селекционных комбинаций в остекленной теплице.

Конкурсное сортоиспытание проводили в зимней остекленной теплице на базе ООО «НИИСОК» г. Крымск в 2019 году. Стандартом для крупноплодных гибридов томата были взяты гибриды F₁ Forenza (Enza Zaden), F₁ Foronti (Seminis); для кистевых гибридов – F₁ Manar (AXIA); для гибридов с сливовидной формой плода – F₁ Prunus (Seminis).

Таблица 18 – Урожайность крупноплодных гибридов томата F₁(Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2019г

Гибрид, F ₁	Материнская линия	Отцовская линия	Средняя масса плода, гр	Выход стандартной продукции, %	Общая урожайность, кг/м ²
к-398/16	Фора - 15	Балу -133	228	91,8	26,52
к-1352/17	Marta 6381	Тайм -32	213	92,4	24,84
F ₁ Forenza	Enza Zaden		198	90,8	24,53

к-407/16	Фора - 15	Гайяна, -51	187	90,2	23,66
к-387/16	БОИНГ -11	Фора-331	245	93,4	23,39
к-49/17	Marta 411	Фора- 321	230	94,9	23,30
F ₁ Foronti	Seminis		235	93,6	23,13
к-2051/16	Фора - 31	Marta 331	210	90,9	23,06
к-431/16	Фора - 165	Балу -1211	216	90,2	21,98
к-1264/17	Тайм -112	Фора - 15	229	93,2	21,75
к-2248/16	Marta 72	Фора - 162	198	94,1	21,38
к-1991/16	Фора- 32	Тор 313	225	92,9	20,55
к-2262/16	Marta 71	Фора - 141	216	93,8	20,23

Анализируя данные, представленные в таблице 18, была выделена к-398/16, которая дала наибольший урожай с м² – 26,52 кг. Так же была выделена комбинация к-387/16, у которой отмечен самый высокий показатель средней массы плода – 245г. Отмечен факт, что выход стандартной продукции у всех селекционных комбинаций был выше 90%.

Таблица 19 –Урожайность кистевых гибридов томата F₁(Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2019г

Гибрид, F ₁	Материнская линия	Отцовская линия	Средняя масса плода, гр	Выход стандартной продукции, %	Общая урожайность, кг/м2
к-235/18	Cometa-1	Фора-2711	129	83,4	28,29
к-2411/16	Мерелис-131	Тайм-21111	143	81,4	25,28
к-660/18	Lada-7	Фора-233-51	142	86,8	24,74
F ₁ Manar	AXIA		139	83,1	24,24

к-1419/17	Мерелис-2111	DIAM-122	115	88,4	23,41
к-1407/17	Lada-911	Кора - 1121111	140	89,2	23,31
к-235/17	Фора-23	MERELI-41	135	82,3	23,08
к-255/17	Кора-264111	Мерелис-321	129	81,3	23,06

По результатам учета урожайности лучший показатель был у комбинации к-235/18 – 28,29 кг/м². Комбинации к-2411/16 и к-660/18 имели показатель урожайности выше стандарта, при этом средняя масса плода у этих комбинаций была выше стандарта. Выход стандартной продукции у селекционных комбинаций был на уровне стандарта.

Таблица 20 – Урожайность сливовидных гибридов томата F₁(Остекленная отапливаемая теплица ООО «НИИСОК», г.Крымск), 2019г

Гибрид, F ₁	Материнская линия	Отцовская линия	Средняя масса плода, гр	Выход стандартной продукции, %	Общая урожайность, кг/м ²
F ₁ Prunus	Seminis		84	83,6	24,79
к-385/17	Кора - 2017	Тайм-3113'	95	93,0	23,58
к-2830/17	PRUNUS -12	Лада-2111	84	89,3	20,96
к-1485/17	MEREL-23	PRUS -12	93	85,3	20,13
к-218/17	Мерелис-1021	Манго-24	92	91,2	18,72
F ₁ T-34	Гавриш		98	85,6	17,75

Для сравнения вместе с селекционными комбинациями был высажен гибрид F₁ T-34. По результатам учета урожайности лучший показатель был у иностранного стандарта, среди селекционных комбинаций больше всех

урожая дала комбинация к-385/17 – 23,58 кг/м², также у этой комбинации отмечен лучший показатель выхода стандартной продукции – 93%.

3.8. Конкурсное сортоиспытание выделившихся селекционных комбинаций в условиях искусственного досвечивания (светокультуры).

В результате фенологических наблюдений было исследовано влияние искусственного досвечивания на сроки цветения и созревания, биометрические показатели и урожайность гибридов томата F₁. Установлено, что некоторые гибриды более отзывчивы к интенсивному свету, другие, менее отзывчивы и в свою очередь, не способны усваивать дополнительное искусственное освещение для преобразования его в прирост к урожайности.

Скороспелость является одним из важных сельскохозяйственных признаков для аграриев. Первым признаком, который изучали было влияние искусственного досвечивания на вегетационный период у растений томата. Наблюдения за цветением и созреванием плодов проводили каждый день. Анализируя полученные данные, был сделан вывод, что искусственный свет благоприятно влияет вегетацию растений всех исследуемых гибридов томата F₁.

В таблице 21 представлены результаты исследования крупноплодных гибридов F₁. Наиболее отзывчивым оказался гибрид F₁ к-1991/16, который под влиянием искусственного освещения начал цвести на 10 дней раньше, а созревать на 23 дня, чем при естественном освещении. В теплице с искусственным досвечиванием гибриды к-2262/16, к-49/17, к-431/16 зацвели на 11 и 9 суток раньше, чем в остекленной теплице без искусственного досвечивания. Образцы к-398/16, к-407/16, к-2262/16 созревали на 22 дня раньше, такая же разница отмечена у стандарта F₁ Foronti (Seminis).

Таблица 21 – Влияние искусственного досвечивания на сроки цветения и созревания крупноплодных гибридов томата F₁, (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019 г.

Гибрида, F ₁	Кол-во дней от посева до							
	начала цветения 1 соцв-я				начала созревания плодов			
	без досвеч	с досвеч	разница, дней	% к St	без досвеч	с досвеч	разница, дней	% к St
St F₁ Foronti	56	49	7	100	121	99	22	100
к-1991/16	57	47	10	143	117	94	23	105
к-398/16	53	46	7	100	116	94	22	100
к-407/16	53	47	6	86	116	94	22	100
к-2262/16	60	49	11	157	121	99	22	100
к-49/17	57	48	9	129	119	98	21	95
к-387/16	57	50	7	100	121	101	20	90
к-431/16	55	46	9	129	115	95	20	90
к-2248/16	55	47	8	114	116	96	20	90
к-1380/17	54	47	7	100	117	98	19	86
к-2051/16	56	49	7	100	117	99	18	82
к-1264/17	54	47	7	100	116	98	18	82
к-1352/17	55	48	7	100	117	100	17	77

Среднеплодные гибриды томата F₁, также положительно отзываются на применение искусственного досвечивания и при этом наблюдали ускорение вегетационного развития растений. Среди образцов данной группы выделили гибрид F₁ к-660/18, цветение которого под влиянием искусственного досвечивания началось на 9 дней раньше, а плоды начали созревать на 21 день раньше. Все полученные данные представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Влияние искусственного досвечивания на сроки цветения и созревания среднеплодных гибридов томата F₁, (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019г.

Гибрид, F ₁	Кол-во дней от посева до							
	начала цветения 1 соцв-я				начала созревания плодов			
	без досвеч	с досвеч	разница, дней	% к St	без досвеч	с досвеч	разница, дней	% к St

St F₁ Manar	54	47	7	100	112	93	19	100
к-660/18	57	48	9	129	115	94	21	111
к-1407/17	53	47	6	86	112	94	18	95
к-235/18	54	46	8	114	111	93	18	95
к-1419/17	54	48	6	86	112	94	18	95
к-2411/16	55	49	6	86	113	96	17	90
к-235/17	58	48	10	143	114	97	17	90
к-255/17	56	48	8	114	112	97	15	79

Во время изучения биометрических показателей растений, наиболее различными оказались данные при измерении длины листа, длины соцветий, длины междоузлий, а также прироста стебля. Период учета составил 44 дня. В таблице 23 представлены результаты измерения биометрических показателей, полученные при изучении крупноплодных гибридов томата. Отмечено, что у большинства гибридов при выращивании с применением искусственного досвечивания уменьшалась длина листа, длина соцветий и длина междоузлий. При анализировании данных, полученных при учете роста стебля, гибриды были условно разделены на 3 группы: слабоотзывчивые к досвечиванию (0-+9 см), среднеотзывчивые (+10-+19 см) и отзывчивые (+20-+30 см). В группу отзывчивых к досвечиванию гибридов попал иностранный стандарт, а также к-387/16, к-398/16, к-2248/16, к-1352/17.

Таблица 23 – Влияние искусственного досвечивания на биометрические показатели крупноплодных гибридов томата F₁, (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019г.

Гибрид, F ₁	Длина листа, см			Длина соцветия, см			Длина междоузлия, см			Прирост стебля за период учета, см		
	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн
к-387/16	49,1	45,2	-3,9	15,6	10,6	-5,0	16,8	11,0	-5,8	153,8	183,4	29,7
St F₁ Foronti	47,3	44,3	-3,0	15,8	13,2	-2,6	16,9	12,6	-4,3	144,3	173,4	29,2
к-1352/17	47,3	43,8	-3,5	19,4	15,6	-3,8	19,1	13,4	-5,7	154,9	183,9	29,0

к-2248/16	44,8	41,3	-3,5	14,4	11,7	-2,7	15,8	11,6	-4,2	150,1	177,3	27,2
к-398/16	50,1	43,7	-6,4	14,4	10,8	-3,6	15,8	12,8	-3,0	167,5	192,5	25,0
к-1264/17	47,7	47,7	0,0	16,9	17,5	0,6	18,0	12,7	-5,3	165,3	178,5	13,3
к-407/16	47,4	44,8	-2,6	15,9	12,2	-3,7	16,7	11,7	-5,0	171,1	184,3	13,2
к-2262/16	48,4	43,7	-4,7	16,5	10,8	-5,7	16,9	10,3	-6,6	169,6	180,4	10,8
к-49/17	46,8	40,1	-6,7	16,2	11,2	-5,0	16,6	10,3	-6,3	161,6	171,9	10,3
к-431/16	47,3	44,7	-2,6	16,0	10,7	-5,3	16,7	12,4	-4,3	178,1	188,3	10,1
к-1380/17	50,9	43,5	-7,4	18,7	13,2	-5,5	18,8	13,1	-5,7	174,5	183,3	8,8
к-1991/16	46,6	42,0	-4,6	15,6	12,4	-3,2	16,7	11,6	-5,1	169,3	173,7	4,4
к-2051/16	48,7	42,7	-6,0	15,5	10,6	-4,9	15,8	10,6	-5,2	159,4	161,6	2,2
НСР05												7,1

Во время изучения среднеплодных гибридов томата на искусственном досвечивании наблюдали уменьшение длины междоузлий, при этом у большинства гибридов отмечено уменьшение длины листа, а длина соцветий варьировала в диапазоне ± 3 см. В качестве отзывчивых к досвечиванию гибридов отметили иностранный стандарт и к-2411/16. Подробные данные представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Влияние искусственного досвечивания на биометрические показатели среднеплодных гибридов томата F_1 , (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019г.

Гибрид, F_1	Длина листа, см			Длина соцветия, см			Длина междоузлия, см			Прирост стебля за период учета, см		
	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн
St F_1 Manar	46,2	45,6	-0,6	18,9	19,9	+1,0	18,2	10,6	-7,6	168,3	199,8	+31,6
к-2411/16	48,4	46,2	-2,2	20,7	20,1	-0,6	18,5	11,1	-7,4	173,0	201,8	+28,8
к-235/17	45,1	46,0	+0,9	18,8	19,0	+0,2	18,4	11,3	-7,1	166,9	185,5	+18,6
к-255/17	47,5	41,6	-5,9	19,6	17,2	-2,4	18,7	11,5	-7,2	168,1	183,4	+15,3
к-660/18	47,2	43,8	-3,4	18,3	21,3	+3,0	18,5	10,7	-7,8	168,0	183,1	+15,1
к-1419/17	47,4	43,7	-3,7	21,0	17,6	-3,4	19,9	10,3	-9,6	165,0	178,4	+13,4
к-1407/17	46,4	42,6	-3,8	17,2	14,4	-2,8	17,4	11,9	-5,5	172,4	184,7	+12,3
к-235/18	48,5	43,0	-5,5	19,1	18,5	-0,6	18,4	11,7	-6,7	175,9	184,1	+8,3
НСР05												5,9

Основным сельскохозяйственно важным показателем гибрида томата F₁ является его потенциальная урожайность, поэтому изучению влияния искусственного досвечивания на этот показатель уделяли особое внимание.

В таблице 25 представлены данные по учету урожайности крупноплодных гибридов. В условиях искусственного досвечивания у всех гибридов F₁, кроме к-387/16, наблюдалось уменьшение средней массы плода. Средняя масса к-387/16 была стабильной в разных условиях освещения.

Стандартность плодов гибридов F₁ к-2262/16, к-2248/16, к-431/16, к-407/16, к-2051/16 в условиях искусственного досвечивания возросла, у остальных гибридов данный показатель находился в пределах ошибки опыта.

Таблица 25 – Влияние искусственного досвечивания на урожайность крупноплодных гибридов томата F₁, (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019г.

Гибрид, F ₁	Средняя масса плода, грамм			Стандартность плодов, %			Урожайность, кг/м ²			
	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн	% к St
St F₁ Foronti	307	249	-58	98,9	97,0	-1,9	2,61	4,5	+1,9	100
к-387/16	274	281	7	99,5	100,0	0,5	2,84	5,9	+3,1	163
к-1380/17	307	230	-77	96,6	97,2	0,6	3,61	6,5	+2,9	152
к-2262/16	268	221	-47	94,4	100,0	5,6	3,00	4,6	+1,6	84
к-49/17	292	237	-55	95,2	97,9	2,7	3,29	4,8	+1,5	79
к-1991/16	304	237	-67	96,8	97,9	1,1	4,37	5,5	+1,1	58
к-1352/17	280	209	-71	97,2	97,7	0,5	4,51	5,2	+0,7	37
к-2248/16	246	218	-28	96,0	100,0	4,0	4,44	4,6	+0,2	11
к-1264/17	316	252	-64	96,9	99,0	2,1	4,94	5,0	+0,1	5
к-398/16	278	234	-44	96,3	94,4	-1,9	4,87	4,7	-0,2	0
к-431/16	265	233	-32	93,5	98,1	4,6	4,90	3,7	-1,2	0
к-407/16	227	205	-22	93,5	96,7	3,2	5,20	3,9	-1,3	0
к-2051/16	235	213	-22	90,6	94,2	3,6	6,07	4,3	-1,8	0
НСР05			11,8			2,75			1,5	

Прирост урожайности гибридов F_1 под действием искусственного досвечивания отметили у четырех исследуемых крупноплодных гибридов и стандарта. Наибольший прирост урожайности у образцов к-387/16, к-1380/17 и составляет $+3,1 \text{ кг/м}^2$ и $+2,9 \text{ кг/м}^2$ соответственно. Урожайность образца к-2051/16 стала ниже, чем без искусственного досвечивания, что свидетельствует о нецелесообразности выращивания данного гибрида в теплицах с искусственным досвечиванием. У остальных гибридов изменения показателя урожайности находились в пределах ошибки опыта.

Таблица 26 – Влияние искусственного досвечивания на урожайность среднеплодных гибридов томата F_1 , (ООО «НИИСОК», г.Крымск) 2019г.

Гибрид, F_1	Средняя масса плода, грамм			Стандартность плодов, %			Урожайность, кг/м ²			
	без	свет	разн	без	свет	разн	без	свет	разн	% к St
St F_1 Manar	148	150	2	86,7	90,9	4,2	5,49	5,7	+0,2	100
к-660/18	162	152	-10	87,3	77,1	-10,2	4,89	6,6	+1,7	850
к-2411/16	156	139	-17	85,1	80,4	-4,7	5,07	6,1	+1,0	500
к-235/17	141	147	6	85,9	83,3	-2,6	4,47	5,0	+0,5	250
к-255/17	132	133	1	82,4	81,9	-0,5	4,96	5,5	+0,5	250
к-1407/17	151	143	-8	91,8	88,4	-3,4	4,57	5,0	+0,4	200
к-1419/17	120	125	5	86,4	74,5	-11,9	5,13	5,5	+0,4	200
к-235/18	138	117	-21	84,3	82,2	-2,1	6,51	6,0	-0,5	0
НСР05			4,1			3,1			0,7	

Анализируя результаты учета урожайности среднеплодных гибридов, представленные в таблице 26, отмечено, что средняя масса плода в условиях искусственного досвечивания изменялась незначительно как в положительную, так и в отрицательную сторону. Максимальное изменение средней массы плода 21 грамм наблюдали у гибрида F_1 к-235/18.

Стандартность плодов только у стандарта F_1 Manar незначительно увеличилась, стандартность плодов гибридов F_1 к-660/18, к-1419/17 стала на

10,2% и 11,9% меньше, а стандартность плодов остальных образцов варьировала в пределах НСР05.

Урожайность практически всех исследуемых среднеплодных гибридов находилась в пределах ошибки опыта, только урожайность гибридов F_1 к-660/18 и к-2411/16 оказалась достоверно больше в условиях искусственного досвечивания, чем без него.

По результатам конкурсного испытания было решено передать в «Государственную комиссию Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений» для внесения в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» две крупноплодные комбинации к-387/16 (F_1 Крещендо) и к-398/16 (F_1 Аркаим), две кистевые комбинации к-235/18 (F_1 Болид) и к-660/18 (F_1 Бэтмен).



Рисунок 11 – Гибрид F₁ Крещендо, СЦ Гавриш, г.Крымск 2019г.

F₁ КРЕЩЕНДО - высокопродуктивный индетерминантный гибрид с вегетативным типом роста. Соцветие простое, компактное с 4 – 5-ю плодами плоско округлой формы (индекс плода 0,7 – 0,8). Плоды в незрелом состоянии интенсивно зеленой окраски, без темно зеленого пятна у основания, при созревании ярко-красного цвета, хороших вкусовых качеств, многокамерные. Средняя масса плода 250-300г. Гибрид лидер по урожайности в условиях светокультуры. Устойчив к: ToMV; Fol; Va;Vd; Ff; Ma;Mi;Mj, (On).



Рисунок 12 – Гибрид F_1 Аркаим, СЦ Гавриш, г.Крымск 2019г.

F_1 АРКАИМ - индетерминантный крупноплодный гибрид. Растения вегетативные. Соцветие простое, компактное с 5-6-ю плодами плоско округлой формы. Плоды в незрелом состоянии интенсивно зеленой окраски при созревании ярко-красного цвета, хороших вкусовых качеств, многокамерные. Средняя масса плода 220-250 г. Гибрид отличается высоким качеством плода и динамикой отдачи урожая. Устойчив к: ToMV; Fol; Va; Vd; Ff; (On).



Рисунок 13 – Гибрид F₁ Болид, СЦ Гавриш, г.Крымск 2019г.

F₁ БОЛИД индетерминантный полувегетативный среднеплодный гибрид. Плод плоскоокруглой формы с массой 120-140 г, без пятна у плодоножки, плоды отличаются очень хорошим цветом и прочностью, в соцветии 89- плодов. ровный, красивое соцветие, без сочленения. Возможен сбор кистями. Устойчив к ToMV;Fol;Va; Vd;Ff; Ma;Mi;Mj, (On)



Рисунок 14 – Гибрид F₁ Бэтмен, СЦ Гавриш, г.Крымск 2019г.

F₁ БЭТМЕН вегетативный индетерминантный гибрид с открытым габитусом. В соцветии 8-10 плодов, плоды плоско-округлые с массой 140-160г, при созревании насыщенно красного цвета, без зеленого пятна у плодоножки. Плоды не осыпаются, возможен сбор кистями Гибрид устойчиво к: ToMV;Fol;Va; Vd;Ff; Ma;Mi;Mj, (On)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В результате проделанной работы в 2016-2019 годах были изучены 14 образцов гибридов томата F_1 зарубежной и отечественной селекции, с заявленной фирмами-оригинаторами устойчивостью к мучнистой росе томата. С помощью методики искусственного заражения устойчивость к патогену была подтверждена в 11 образцах, 3 образца определены как неустойчивые.
2. Генотипы коллекционных образцов были оценены при помощи метода ПЦР-анализа в реальном времени, проведенного на амплификаторах LightCycler 480 II. Результат анализа показал, что во всех исследованных гибридах имеются гены устойчивости к вирусу табачной мозаики, фузариозному увяданию и вертициллезу, во многих гибридах так же присутствует ген устойчивости к бурой пятнистости. Гены устойчивости чаще обнаружены в гетерозиготном состоянии, но также встречались устойчивые гомозиготы.
3. Результаты искусственного заражения растений томата вирусом табачной мозаики (ВТМ) подтвердили данные, полученные при ПЦР-анализе. При этом применяя молекулярные маркеры можно быстро и точно определить аллельное состояние гена в растении, что является невозможным при традиционном искусственном заражении. Созданный маркер и методику ПЦР-анализа можно рекомендовать для широкого применения в селекционном процессе культуры томата.
4. На основании результатов оценки коллекционного материала была создана современная модель перспективного гибрида F_1 для выращивания в зимних остекленных теплицах, характеризующаяся следующими параметрами: полувегетативный тип роста со сближенными междоузлиями, раннего и среднего срока созревания, простой тип соцветия с 4-5 плодами, если плоды средней массой больше 200 грамм; с 6-7 плодами массой до 180 грамм для сбора кистями. В генотипе современной модели гибрида

необходимы гены устойчивости к мучнистой росе, вирусу табачной мозаики, фузариозному и вертициллезному увяданиям, бурой пятнистости.

5. Коллекционный материал был оценен по фенологическим, биометрическим, а также помощью метода ПЦР-анализа в реальном времени, за короткий период, были отобраны образцы, с комплексом генов устойчивостей к заболеваниям в гомозиготном состоянии, что позволило выделить 23 перспективных образца томата, которые были использованы в получении новых гибридных комбинаций.

6. Проведено конкурсное сортоиспытание в зимних остекленных теплицах для сравнения полученных перспективных селекционных комбинаций с иностранными гибридами. По итогам было выделено 8 гибридных комбинаций: 5 крупноплодных (к-398/16, к-1352/17, к-407/16, к-387/16, к-49/17) и 3 кистевых (к-235/18, к-2411/16, к-660/18), которые были размножены и переданы на Производственное испытание в тепличные комбинаты.

7. По результатам конкурсного испытания на участке с применением искусственного досвечивания сделаны выводы, что применение этого метода в теплицах ускоряет сроки наступления фенологических фаз у гибридов томата F_1 ; способствует уменьшению длины листа, соцветий и междоузлий, но при этом наблюдается увеличение прироста стебля ежедневно; влияние на урожайность гибридов томата неодинаково, отмечена высокая прибавка к урожайности у гибридов F_1 к-387/16 и F_1 к-660/18;

8. По итогам производственных сортоиспытаний в Государственную комиссию переданы 2 крупноплодных комбинации к-398/16, к-387/16 и 2 кистевые комбинации к-235/18, к-660/18. Селекционным комбинациям присвоены следующие названия к-387/16 (F_1 Крещендо) и к-398/16 (F_1 Аркаим), две кистевые комбинации к-235/18 (F_1 Болид) и к-660/18 (F_1 Бэтмен)

РЕКОМЕНДАЦИИ СЕЛЕКЦИОННЫМ УЧРЕЖДЕНИЯМ И ПРОИЗВОДСТВУ

1. При создании высокопродуктивных гетерозисных гибридов томата F_1 рекомендуется использование метода молекулярной диагностики растений Real-Time PCR, с применением олигонуклеотидных праймеров. Это позволит ускорить селекционный процесс и определять с высокой точностью наличие генов устойчивостей или других генов, интересующих селекционера.
2. В целях повышения урожайности рекомендовать к выращиванию в остекленных теплицах России крупноплодные гибриды томата индетерминантного типа роста F_1 Крещендо и F_1 Аркаим и среднеплодные кистевые гибриды томата индетерминантного типа роста F_1 Бэтмен и F_1 Болид.
3. К выращиванию с применением искусственного досвечивания рекомендуются крупноплодный гибриды F_1 Аркаим и среднеплодный гибрид F_1 Бэтмен.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев А.Ю. Селекция томата / А.Ю. Авдеев. – Кишинев: Штиница, 1982. – 284 с.
2. Аджиева, В.Ф. Создание комплекса ДНК – маркеров к генам томата, с определяющим содержание каротиноидов и устойчивость к болезням и вредителям / В.Ф. Аджиева, З.Е. Грущевская, С.В. Малышев, Н.А. Некрашевич и др. // II Международ. науч.-практ. конф. «Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы» - ГНУ «ВНИИССОК» РАСХН. – М. – 2010. – Т. 2 – 47-59 с.
3. Азарин К.В. ДНК маркеры в селекции растений: учеб. пособие. / К.В. Азарин, Н.В. Маркин, В.С. Лотник, А.В. Усатов // Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2012. С. 16.
4. Алпатыев А. В. Помидоры / А. В. Алпатыев. - М.: Колос, 1981. - 304 с.
5. Алпатыев А.В. Наследование устойчивости к галловой нематоды томата / А.В. Алпатыев, В.Ф. Пивоваров, М.Х. Арамов // Селекция овощных культур – сб. науч. - прак. - ВНИИ селекции и семеноводства овощных культур. – М.: – 1986. –77 – 82 с.
6. Алпатыев А.В. Томаты / А.В. Алпатыев, Б.А. Герасимов, Е.А.Осницкая, Г.В. Тотмаков, П.Г. Шереметьевская // Сельхозиздат, - М., 1937.
7. Амин Д. Изучение устойчивости селекционных линий томата к фузариозному увяданию / Д. Амин, Г.Ф. Монахос // Издательство Тимирязевской с.-х. академии. – М.: Выпуск 1. – 2005. – 80-87 с.
8. Амин Д. Химическая защита томата от фузариозного увядания / Д. Амин, Ф.С. Джалилов // Овощеводство и тепличное хозяйство. - 2007. - №9. – 40-41 с.
9. Андреев, Ю. М. Овощеводство / Ю.М. Андреев - М.: ПрофОбрИздат, 2002. - С. 185-216.
10. Асланян Г.Г. Болезнеустойчивость культивируемых сортов овощных культур — надежный метод защиты окружающей среды от загрязнений / Г.Г. Асланян, С.А. Айрапетова // материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Селекция и семеноводство овощных культур в XXI веке» (24-27 июля 2000

г.). М., 2000. С 109-110.

11. Ахатов А.К. Болезни вредители овощных культур картофеля / А.К. Ахатов, Ф. Б. Ганнибал, Ю.И. Мешков, Ф.С. Джалилов и др. // «Товарищество научных изданий КМК» - Москва 2013. - с 172-174
12. Ахатов А.К. Мир глазами фитопатолога / А.К. Ахатов. - М.: КМК, 2012. – 296 с.
13. Багирова С. Ф. Новая номенклатура томата / С. Ф. Багирова, С. И. Игнатова // журнал Гавриш № 1. М. - 2009. - С. 30-31.
14. Балашов, Е. С. Особенности роста и развития новых гибридов томата при выращивании в продленном обороте зимних остекленных теплиц: дис. к.с.-х.н.: 06.01.06 / Е. С. Балашов. -М., 2006. - 147 с.
15. Балашова Н.Н. Генетические основы селекции овощных культур на устойчивость к ВТМ / Н.Н. Балашова, М.М. Король, О.О. Тимина // – Кишинев, 1993. – 115 с.
16. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. –528 с.
17. Баташова М.Е. Идентификация линий озимой пшеницы методом молекулярных маркеров AFLP / М.Е. Баташова, М.М. Онищенко, Н.М. Чекалин // Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты: материалы междунар. науч. конф., 3-6 дек. 2008 г., Минск. Изд. Центр БГУ, 2008. С. 40-43.
18. Беккер, Х. Селекция растений / Х. Беккер; пер. с нем. В. И. Леунова; под ред. В. И. Леунова, Г. Ф. Монахова. - М.: Товарищество научных изданий КМК, 2015. - 425 с.
19. Беков Р. Х. Создание исходного материала томата с использованием генетических маркеров и эффективные пути его применения в практической селекции: дис. д-ра с.-х. наук: 06.01.05 / Р.Х. Беков. - М., 2012. - 461 с.
20. Бексеев Ш.Г. Раннее овощеводство. Селекция. Возделывание. Семеноводство / Ш. Г. Бексеев. - СПб.: ПрофиКС, 2006. - 406 с.
21. Бексеев, Ш. Г. Томат / Ш. Г. Бексеев. - СПб.: Лениздат, 1995. - 80 с.

22. Брежнев Д. Д. Дикие виды и полукультурные разновидности томатов и использование их в селекции / Д. Д. Брежнев. - Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1974. - 138 с
23. Брежнев, Д. Д. Томаты / Д. Д. Брежнев. - 2-е изд., перераб. и доп. - Л.: Колос, 1964. - 320 с.
24. Брежнев, Д. Д. Томаты / Д. Д. Брежнев. - М.: Гос. изд-во с.-х. лит., 1955. - 352 с.
25. Брянцева, З. Н. Физиология тепличных томатов / З. Н. Брянцева, В. Ф. Альтерготт. - Новосибирск: Наука, 1989. - 96 с.
26. Буц А.В. Использование гибридных зондов Real-time PCR, на примере маркера гена устойчивости к ВТМ культуры томата / А.В. Буц, Л.В.Цаценко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. - Краснодар: КубГАУ, 2020. - №04(158). С. 168 - 180. – IDA [article ID]: 1582004012. Режим доступа: <http://ei.kubagro.ru/2020/04/pdf/12.pdf>, 0,812 у.п.л.
27. Буц А.В. Исследование коллекции гибридов томата F1 с устойчивостью к мучнистой росе для выращивания в зимних остекленных теплицах / А.В. Буц, Л.В.Цаценко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. - Краснодар: КубГАУ, 2019. - №06(150). С. 143 - 155. - IDA [article ID]: 1501906027. - Режим доступа: <http://ei.kubagro.ru/2019/06/pdf/16.pdf> , 0,812 у.п.л
28. Буц А.В., Цаценко Л.В., Старцева Н.В. Влияние искусственного досвечивания на гибриды томата f1, созданные с применением метода real-time pcr / Буц А.В., Цаценко Л.В., Старцева Н.В. // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). [Электронный ресурс]. - Краснодар: КубГАУ, 2021. - №05(169). - IDA [article ID]: 1692105023. - Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/05/pdf/23.pdf>, 1.000 у.п.л.

29. Буц А.В. Составление современной модели гибрида томата, обзор цели и задач исследований для ее получения / А.В. Буц, Л.В. Цаценко // В сборнике: Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам X Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 120-летию И. С. Косенко. Отв. за вып. А. Г. Кощев. 2017. С. 72-73
30. Буц А.В. Исследование коллекции гибридов f1 томата с использованием метода real-time pcr / А.В. Буц, Л.В. Цаценко // В сборнике: Научное обеспечение агропромышленного комплекса. Сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции студентов по итогам НИР за 2017 год. Ответственный за выпуск А.Г. Кощев. 2018. С. 9-11.
31. Буц А.В. Исследование коллекции современных гибридов томата для защищенного грунта с помощью днк-маркеров / А.В. Буц, Л.М. Цаценко // В сборнике: Итоги научно-исследовательской работы за 2017 год, сборник статей по материалам 73-й научно-практической конференции преподавателей. 2018. С. 7-8.
32. Буц А.В. Исследование коллекции гибридов томата F1 с устойчивостью к мучнистой росе для выращивания в зимних остекленных теплицах / А.В. Буц, Л.В. Цаценко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2019. № 150. С. 143-155.
33. Вдовиченко Л.Д. Генетическая паспортизация сортов пшеницы с использованием ISSR-PCR маркеров / Л.Д. Вдовиченко, В.И. Глазко// Сельскохозяйственная биология. 2007. №3. С. 33–37.
34. Велика, В. Ф. Овощеводство открытого грунта / В. Ф. Велика. - М.: Колос, 1976. - 328 с.
35. Гавриш С. Ф. Светотребовательность новых гибридов томата при выращивании в продленном обороте зимних теплиц / С.Ф. Гавриш, В. Г. Король, И. А. Шульгин // Гавриш. - 2003. - № 3. - С. 13-19.
36. Гавриш С. Ф. Томаты / С.Ф. Гавриш. - М.: Вече, 2005. - 160 с.

37. Гавриш С.Ф. Использование молекулярных маркеров при создании гибридов томата, устойчивых к грибным заболеваниям / С.Ф. Гавриш, М.В. Будылин // Гавриш. Москва. 2016. №6. С. 24-33.
38. Гавриш С.Ф. Томат: возделывание и переработка / С. Ф. Гавриш, С. Н. Галкина. - М.: Росагропромиздат, 1990. - 190 с.
39. Гавриш С.Ф. Томаты / С.Ф. Гавриш. - М.: НИИОЗГ, ООО «Издательский Скрипторий 2000», 2003. - 38 с.
40. Гавриш С.Ф. Эволюция селекции / С.Ф. Гавриш. Вестник овощеводства. М. 2018. С. 2-5.
41. Гавриш, С. Ф. Гибриды «Гавриш» для светокультуры есть. И будут лучше! / С. Ф. Гавриш //Гавриш. - 2017. - №1. - С. 12-21.
42. Гавриш С.Ф. Изучение коллекции гибридов F₁ томата с генетической устойчивостью к вирусу желтой курчавости листьев томата для пленочных теплиц юга России / С.Ф. Гавриш, Т.А. Редичкина, А.В. Буц, Г.М. Артемьева // Картофель и овощи. 2020. № 12. С. 30-34.
43. Гаранько И.Б. Выращивание томатов в защищенном грунте Нечерноземной зоны РСФСР / И.Б. Гаранько, Р.И. Штрейс, А. Ф. Голишевский // Л.: Агропромиздат, 1985. - 144 с.
44. Гиш Р.А. Овощеводство защищенного грунта / Р.А. Гиш. – Краснодар: ИП Профатилов, 2018. -464 с.
45. Глазко В.И. Генетические взаимоотношения между сортами сои, оцененные с использованием ISSR маркеров / В.И. Глазко, А.В. Дубинин, Р.Н. Календарь // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 5. С. 47–52.
46. Горшкова Н.С. Иммунологические аспекты селекции томата на устойчивость к болезням / Н.С. Горшкова, С.И. Игнатова //тезисы докл. Научн.-теоретич .Конференции «Селекция и семеноводство овощных и бахчевых культур» М.:ВНИИО, 1998, С.83
47. Готоцева И. П. Использование селекционных линий тепличного томата, отобранных по устойчивости к болезням и комбинационной ценности, в селекции на гетерозис/ Готоцева И.П., Гавриш С.Ф. //

Прогрессивные приемы в овощеводстве, селекции и семеноводстве овощных культур – сб. науч. тр. – М.: ТСХА, 1986. – 59 – 67 с.

48. Грушецкая З.Е. Возможные источники новых генов устойчивости к возбудителю кладоспориоза томата в видах *Solanum L.* / З.Е. Грушецкая, В.А. Лемеш, В.Д. Поликсенова // Овощеводство. – Минск. – 2010. – Вып. 18. – 112 – 119 с.

49. Гуриш, А. В. Агроэкологическое обоснование приемов возделывания томата в зимних остекленных теплицах Саратовской области: дис. к. с.-х. н.: 03.00.16 , 06.01.06 / А. В. Гуриш. - Саратов, 2006. - 147 с.

50. Давидчук Н.Д. Полиморфизм запасных белков и использование его в семеноводстве пшеницы и ячменя / Н.Д. Давидчук., Е.М. Корабельская, Н.В. Еремеева, Г .И. Кобыльский // Вестник Тамбовского Государственного Университета. 2009. Т. 14. С. 116–121.

51. Долматов Д. А. Защита культуры томата и огурца от галловых нематод в условиях закрытого грунт / Д. А. Долматов. Известия национальной академии наук Беларуси. – 2005. – №5. –123 – 125 с.

52. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б. А. Доспехов. - 6-е изд., доп. и перераб. - М. Альянс, 2011. - 351 с.

53. Емелина Н.Н. Современное состояние классификации возбудителя мучнистой росы томата в защищенном грунте [*Oidium neolycopersici*]. Современ. тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы / Н.Н. Емелина, Т.А. Терешонкова // Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции и семеноводства овощных культур. - Москва, 2010; Т. 1. - С. 286-290

54. Жученко А. А. Генетика томатов / А. А. Жученко. - Кишинев: Штиница, 1973. - 664 с.

55. Жученко А. А. Экологическая генетика культурных растений / А.А. Жученко. - Кишинев: Штиница, 1980. - 587 с

56. Игнатова С. И. Молекулярные исследования в области селекции

томата на устойчивость к заболеваниям: краткий обзор последних достижений и приоритетных направлений / С. И. Игнатова, Т. А. Терешонкова, С. Ф. Багирова // Гавриш. - 2008. - № 3. - С. 44-47.

57. Игнатова С.И. Молекулярные исследования в области селекции томата на устойчивость к заболеваниям: краткий обзор последних достижений и приоритетных направлений / С.И. Игнатова, Т.А. Терешонкова, С.Ф. Багирова // Журнал – «Гавриш», № 3. – 2008. – 44-47 с.

58. Игнатова С.И. Нематодоустойчивые томаты и борьба с галловыми нематодами в теплицах / С.И. Игнатова, Е.И. Кондакова // Всесоюз. Собрание по нематодным болезням: Тезисы докладов и сообщений. – Воронеж. – 1987. – 220 – 222 с.

59. Игнатова С.И. Современные аспекты селекции на устойчивость к болезням (на примере томата). – Всерос. науч. – исслед. ин-т риса. – 2011. – 224-228 с.

60. Игошина, З. И. Особенности роста и развития томатных растений в условиях недостаточного освещения при осенне-зимней культуре в теплицах: дис.к. с.-х. н.: 06.01.06 / З. И. Игошина. - М. 1952. - 176 с.

61. Календарь Р.Н. Исследование молекулярно-генетического полиморфизма генома ячменя (*Hordeum vulgare*L.) методом полимеразной цепной реакции: дис. канд. биол. наук: 03.00.26. Сиволап –Одесса, 1996. 105 с.

62. Календарь Р.Н. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение / Р.Н. Календарь, В.И. Глазко // Физиология и биохимия культ. растений, 2002. Т. 34. №4. 19 с.

63. Калько Г.В. ДНК-маркеры для оценки генетических ресурсов ели и сосны / Г.В. Калько. - Труды Санкт-Петербургского НИИ лесного хозяйства. 2015. №4. С. 19-34.

64. Калюжный С.В. Словарь нанотехнологических и связанных с нанотехнологиями терминов / С.В. Калюжный. - М.: Физматлит, 2010. – 528 с.

65. Карие, К. Э. Влияние некоторых микроэлементов на

болезнеустойчивость и урожайность томатов в условиях Эстонской ССР: автореф. к.б.н. / К. Э. Карие. - Тарту, 1962. - 30 с.

66. Кармен де Висенте М. Использование технологии молекулярных маркеров в изучении генетического разнообразия растений: учебный модуль / М. Кармен де Висенте, Т. Фултон // Международный институт генетических ресурсов растений (IPGRI) и Институт разнообразия геномов (IGD) Корнельского Университета. 2003. 372 с.

67. Квасников Б.В. Методика селекции сортов и гибридов томата устойчивых к вирусу табачной мозаики в связи с его вариабельностью / Б.В. Квасников, С.И. Игнатова, Н.С. Горщикова - М., 1984. - 29 с.

68. Клеринг, Х. П. Оптимизация использования солнечной радиации и других видов энергии в производстве тепличных овощей: дис.к. с.-х. н.: 06.01.06 , 05.20.02 / Х. П. Клеринг. - М., 1982. - 165 с.

69. Козлова С.А. Особенности применения SNP-маркеров, разработанных для аллополиплоидной пшеницы / С.А. Козлова, Е.К. Хлесткина, Е.А. Салина // Генетика. 2009. V. 45. №1. С. 92–96.

70. Кондратенко Е.И. Цитогенетические и молекулярно-биологические методы анализа растений: учебно-методическое пособие / Е.И. Кондратенко. –Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет». 2015. С. 51–54.

71. Король В. Г. Особенности формирования урожая и обоснование элементов сортовой технологии новых гибридов томата в зимних теплицах: дис. канд. с.- х. наук : 06.01.06 / В.Г. Король. - М., 1989. - 269 с.

72. Король В.Г. Влияние искусственного освещения на урожайность овощных культур в защищенном грунте / В.Г. Король. - журнал «Теплицы России», № 1.- М., 2020.

73. Кружилин, А. С. Выращивание овощных культур и картофеля при орошении / А. С. Кружилин - М: Россельхозиздат, 1975. - С. 22-44.

74. Кудряшова, Л. В. Фотоморфогенез гибридов огурца в условиях светокультуры с применением экспериментальной фитосистемы эско на основе узкополосных светоиспускающих диодов / Л. В. Кудряшова, О. Э.

Кибардина // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2020. – № 22. С. 63-66.

75. Куклев, М.Ю. Анализ локусов генов устойчивости томата к фузариозу и вертициллезу и создание на их основе ДНК маркер. Автореф. дис. канд. с. – х. наук: 03.00.23. – М. – 2007. – 14 с.

76. Лесовская, С. Г. Сортоизучение томата в продленном обороте второй световой зоны / С. Г. Лесовская// Вестник Новгородского государственного университета. - 1991. - № 11.

77. Маркин Н.В. Полиморфизм геномной ДНК однолетних видов подсолнечника / Н.В. Маркин, В.Е. Тихобаева, М.А. Тихонова и др. // Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. М. - 2010. Вып. 2. С. 144–145.

78. Межнина О.А. Идентификация сортов земляники садовой (*Fragaria ananassa*) с использованием SSR-маркеров / О.А. Межнина, О.Ю. Урбанович // Молекулярная и прикладная генетика. 2016. Т. 20. С. 37–45.

79. Методические указания ВИР по изучению и поддержанию мировой коллекции овощных пасленовых культур (томат, баклажаны, перцы). - Л.: ВИР, 1977. - с. 24.

80. Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта: - М.: ВАСХНИЛ, 1986. - 112с.

81. Молчанов, А. Г. Энергосберегающее оптическое облучение промышленных теплиц / А. Г. Молчанов, В. В. Самойленко. Ставрополь: АГРУС, 2013. – с. 6-9

82. Монахос Г.Ф. Томат: селекция на устойчивость для весенних теплиц / Г.Ф. Монахос, Тхи Лоан Нгусн// Журнал – Картофель и овощи, 2014. - № 12. – 28-29 с.

83. Нековаль С. Н. Основные классификации томата / С. Н. Нековаль, В. Беляева, М. А. Касьянова // Молодой ученый. М - 2015. - № 9. - С. 112-113.

84. Нековаль, С. Н. Комплексная оценка рода *Lycopersicon*ourn. на примере видов: *L. esculentum* var. *pimpinellifolium* (Mill.) Brezh., *L.*

esculentum var. cerasiforme (A.Gray) Brezh., *L. cheesmanii typicus riley* и *L. esculentum mill.* мутантных форм Мо 393, Мо 500 : автореф. дис. канд. биол. наук : / С.Н. Нековаль. - Краснодар, 2011. - 24 с.

85. Неменушная, Л. А. Эффективное освещение / Л. А. Неменушная // АГРОБизнес. - 2017. - №2 (42). - С. 28-29.

86. Нестерович, А. Н. Влияние гена *gin* на проявление хозяйственно-ценных признаков у гибридов F₁ томата в условиях защищенного грунта: автореф. дис. канд. с.-х. наук : 06.01.05, 06.01.06 / А.Н. Нестерович. - М., 2007. 23 с.

87. Нестерович, А. Н. Кистевые томаты – новый тренд потребительских предпочтений в России / А. Н. Нестерович // Теплицы России. - 2018. - №1. - С. 40-43.

88. Октябрьская Т. А. Томаты / Т. А. Октябрьская. - М. : МСП, 2004. - 257 с.

89. Омашева М.Е. Молекулярные маркеры. Причины и последствия ошибок / М.Е. Омашева, К.П. Аубакирова, Н.А. Рябушкина // Биотехнология. Теория и практика. 2013. №4. С. 20–28.

90. Палкин Ю. Ф. Продуктивность гетерозисного гибрида томата при семенном и вегетативном размножении / Ю. Ф. Палкин, К. З. Гамбург, А. Д. Метлякова, Л. А. Семенова // С.-х. биол. Сер. Биол. раст. - 2000. - № 3. - С. 80-83.

91. Пивоваров, В. Ф. Частная селекция пасленовых культур. Томат и физалис / В.Ф. Пивоваров, Р. В. Скворцова, И. Ю. Кондратьева. - М., 2002. - 285 с.

92. Пивоваров, В.Ф. Селекция и семеноводство овощных культур / В. Ф. Пивоваров. - Москва: ВНИИССОК. - 2007. – 807с.

93. Поликсенова В.Д. Биоразнообразие в патосистеме "*Lycopersicon (tourn.) mill.* – *Cladosporium fulvum* Ске. / В.Д. Поликсенова. - Достижения современной биологии и биологическое образование. Труды 2 – й Междун. науч. – практ. конф. 29 – 30 ноября 2002г., Минск. – Мн.: Издательский центр БГУ. – 2002. –105 – 109 с.

94. Пухальский В.А. Проблемы естественного и приобретенного иммунитета растений / В.А. Пухальский, Т.И. Одинова, Л.И. Извекова и др. // Вестник ВОГиС. – 2007. – Т.11. - № 3-4. – 631 – 649 с.
95. Рыжова Н.Н. Анализ микросателлитных локусов хлоропластного генома перца (*Capsicum*) / Н.Н. Рыжова, Е.З. Кочиева // Генетика. 2004. Т . 40. №8. С. 1093–1098.
96. Самсонова Л.Н. Диагностика вирусных и фитоплазменных болезней овощных культур и картофеля / Самсонова Л.Н., Цыпленков А.Е., Якуткина Т.А.// – Санкт-Петербург: ВИЗР, 2001. – 48 с.
97. Сатарова Т.Н. SNP-анализ в паспортизации и идентификации линий кукурузы / Т.Н. Сатарова, Б.В. Дзюбецкий, В.Ю. Черчель, В.В Борисова, М.Н. Таганцова // Сортовивчення та охорона правна сорти рослин: наук.-практ. журн. 2014. № 3 (24). С. 4–9.
98. Семашко Т.В. Государственная инспекция по испытанию и охране сортов растений / под общ. ред. Т. В. Семашко. Минск, 2011. 36 с.
99. Скворцова Р.В. Селекция на биотическую и абиотическую устойчивость как составная часть общей адаптивности растений / Р.В. Скворцова, Л.К. Гуркина // тезисы докладов Первой всероссийской конференции по иммунитету растений к болезням и вредителям. -СПб ,2002, С.230
100. Скворцова, Р. В. Томаты / Р. В Скворцова. - М.: Астрель, 2003. - 126 с.
101. Смирнова Е.В. Белковые маркеры сортов и гибридов огурца и перспективы их использования в селекции и семеноводстве: дис. канд. с.-х. наук: 06.01.05. Санкт-Петербург , 2000. 84 с.
102. Сулимова Г.Е. Генотипирование локуса каппа-казеина у крупного рогатого скота с помощью полимеразной цепной реакции / Г.Е. Сулимова Генетика. 1991. Т. 27. № 12. С. 2053–2062.
103. Тараканов, Г. И. Овощеводство / Г. И. Тараканов, В. Д. Мухин, К. А. Шуин , Н. В. Борисов и др. 2-е изд., перераб. и доп. - М.: КолосС, 2003. - С. 171-286.

104. Терешонкова Т.А. Практика применения методов маркерного анализа в схеме селекционного процесса создания гибридов томата с групповой устойчивостью к болезням / Т.А. Терешонкова , А.Н. Ховрин , Ю.Н. Приходько, А.А. Егорова, Л.М. Соколова // Материалы III международной научно-практической конференции. Киров, 2017 с.172-175
105. Терешонкова Т.А., Новое опасное заболевание томата/ Т.А. Терешонкова, А.В. Корнев, Е.Л. Плотников // Журнал – Картофель и овощи, 2014. - № 12.- 18-19 с.
106. Тимин Н.И. Межвидовая гибридизация и ее использование в селекции овощных культур / Н.И. Тимин, И.В. Титова //Тезисы докладов научно-практич. Конференции «Овощеводство: состояние, проблемы, перспективы» -М.: ВНИИО, 2001, С.270-274
107. Ткаченко Ф.А. Гибридное семеноводство овощных культур / Ф.А. Ткаченко. - М. : Сельхозиздат, 1963. - 199 с.
108. Удалова, О. Р. Сорта и гибриды растений томата в условиях интенсивной светокультуры / О. Р. Удалова, Г. Г. Панова, Л. М. Аникина, В. Л. Судаков // Агрофизика. – 2015. - № 2. – С. 26-30.
109. Урбанович О.Ю. Оценка генетического разнообразия генофонда плодовых культур и разработка методов ДНК-идентификации и генотипирования сортов и видов: Автореф. Дис.канд. биол. наук: 03.01.07. Минск. 2015. 47 с.
110. Фесенко И.А. Создание ДНК – маркера гена устойчивости томата к фузариозному увяданию / И.А. Фесенко, М.Ю. Куклев, Г.И. Карлов // Изв. Тимирязевской с. – х. акад. – М. – 2007. – Вып. 1. – 66 – 72 с.
111. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е.К. Хлесткина. - Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. С. 1044–1054.
112. Хрусталева Л.И. Молекулярная цитогенетика в селекции растений. -/ Л.И. Хрусталева. –Известия ТСХА, выпуск 1. М.: 2007. -45-55 с.
113. Цыдендамбаев, А. Д Тепличный практикум. Томаты: технология / А.

Д. Цыдендамбаев // Дайджест журнала "Мир теплиц". - М.: Наука, 2011. - 203 с.

114. Шавруков Ю.Н. CAPS-маркеры в биологии растений / Ю.Н. Шавруков . - Вавиловский журнал генетики и селекции. 2015. Т. 19. №2. С. 205–213.

115. Шаптуренко М.Н. Использование RAPD-маркеров для оптимизации отбора исходного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в селекции на гетерозис / М.Н. Шаптуренко, Л.А. Тарутина, Т.В. Печковская, Л.А. Мишин, Л.В. Хотылева // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. №1. С. 63–71.

116. Юлдашов Ж.Ю. Распространенность ВТМ на растениях томата. Биология и биотехнология микроорганизмов / Ж.Ю. Юлдашов, Т.М. Каримов, А.Х. Вахабов // – Ташкент. – 1989. – 14 – 21 с.

117. Akbari M. Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome / M. Akbari, P. Wenzl, V. Caig, J. Carling, L. Xia, S. Yang, G. Uszynski, V. Mohler, A. Lehmensiek, H. Kuchel, MJ Hayden., N. Howes, P. Sharp, P. Vaughan, B. Rathmell, E. Huttner, A. Kilian // Theoretical and Applied Genetics, 2006. V. 113. №8. P. 1409-1420. doi:10.1007/s00122-006-0365-4

118. Anbinder J. Molecular dissection of tomato leaf curl virus resistance in tomato line TY 172 derived from *Solanum peruvianum* / J. Anbinder, M. Reuveri, R. Azari, J. Paran // Theoretical and Applied Genetics 119, 2009. – 519-530 P.

119. Assaf Eybishtz RNAi – based genome – wide screen to discover genes involved in resistance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) in tomato, 2011

120. Baergen K.D. Resistance of Tomato Genotypes to Four Isolates of *Verticillium dahliae* Race 2. / K.D. Baergen, J.D. Hewitt, D.A. Clair // – 1993. – Vol. 28. № 8. –833 – 836 P.

121. Bai Y. Tomato defense to *Oidium neolycopersici*: dominant Ol genes confer isolate-dependent resistance via a different mechanism than recessive ol-2. / Y. Bai, R. van der Hulst, G. Bonnema, T.C. Marcel, F. Meijer-Dekens, R.E. Niks, P. Lindhout // Mol Plant Microbe Interact. Molecular Plant-Microbe Interactions. - 2005. Vol. 18, No 4, P. 354-362.

122. Bai Y. Mapping Ol-4, a gene conferring resistance to *Oidium neolycopersici* and originating from *Lycopersicon peruvianum* LA2172, requires multi-allelic, single-locus markers. / Y. Bai, R. Van der Hulst, C. Huang, L. Wei, P. Stam, P. Lindhout // *Theoretical and Applied Genetics* 109. - 2004. 1215-1223.
123. Bai Y. Naturally occurring broad-spectrum powdery mildew resistance in a Central American tomato accession is caused by loss of mlo function / Y. Bai et al. // *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21. - 2008. 30-39.
124. Bai Y. QTLs for tomato powdery mildew resistance (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon parviflorum* G1.1601 co-localize with two qualitative powdery mildew resistance genes. / Y. Bai, C.C. Huang, R. van der Hulst, F. Meijer-Dekens, G. Bonnema, P. Lindhout // *Mol Plant Microbe Interact.* – 2003. Feb;16 (2):169-76.
125. Balint-Kurti P.J. RFLP linkage analysis of the Cf- 4 and Cf-9 genes for resistance to *Cladosporium fulvum* in tomato / P.J. Balint-Kurti, M.S. Dixon, D.A. Jones // – 1994. – Vol. 88. –691-700 P.
126. Becker-Dillinger J. Pflanzen aus der Familie der Solonaceen, Nachtschattengewachse / J. Becker-Dillinger. - Handbuch des Gasamten Gemuselau, 1956.
127. Beckmann J.S. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mappingandcosts / J.S. Beckmann, M. Soller // *Theor. Appl. Genet.* 1983. V. 67. Pp. 35–43.
128. Boiteux L.S. Genetic basis of resistance against two Tospovirus species in tomato (*Lycopersicon esculentum*) / L.S. Boiteux, L.D.B. Giodano // – 1993. – Vol. 71. –151 – 164 P.
129. Boumival B.L. Genetic analysis of resistance to race 1 and 2 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* from the wild tomato *Lycopersicon pennellii* / B.L. Boumival, C.E. Vallejos, J.W. Scott // *Theor. Appl. Genet.* – 1990. – Vol. 79. – 641-645 P.
130. Breyne P. Applications of AFLP in plant breeding, molecular biology and genetics / P. Breyne, W. Boerjan, T. Gerats, M. Van Montagu, A. Van Gysel

// Belg. Journ. Bot. 1997. V. 129. No. 2. P. 107–117.

131. Brouwer D.J. QTL analysis of quantitative resistance to *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato and comparisons with potato. / D.J. Brouwer, E.S. Jones, D.A. St Clair // *Genome*, 2004. – Vol. 47(3). – 475-492 P.

132. Charmet G. Implementation of genomewide selection in wheat / G. Charmet, E. Storlie // *Russian Journal of Genetics: 83 Applied Research*. 2012. V. 2. No. 4. P. 298–303. doi: 10.1134/S207905971204003X

133. Ciccarese F. Occurrence and inheritance of resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersici*) in *Lycopersicon* species / F. Ciccarese, M. Amenduni, D. Schiavone, M. Cirulli // *Plant Pathology* 47. -1998. 417-419.

134. Daami – Remadi M. First report of *Verticillium dahliae* race 2 in Tunisia / M. Daami – Remadi, D.J. Barbara, F. Ayed // – 2006. – Vol. 55. – 816 P.

135. Datwyler S.L. Genetic variation in hemp and marijuana (*Cannabis sativa* L.) according to amplified fragment length polymorphisms / S.L. Datwyler , G.D. Weiblen // *J Forensic Sci.* 2006. V. 51. P. 371–375. doi: 10.1111/j.1556-4029.2006.00061.x

136. Devan Z. Response of tomato rootstocks with the Mi resistance gene to *Meloidogyne incognita* race 2 at different soil temperature / Z. Devan, M.A. Sogut, N. Multu // – 2010. – Vol. 49. – №1. – 11 – 17 P.

137. Devos K.M., Extended genetic maps of homoeologous group 3 chromosomes of wheat, rye and barley / K.M. Devos, M.D. Gale // *Theor. Appl. Genet.* 1993.V.85. P.649–552.

138. Dickinson M. J. Close Linkage Between the Cf-2/Cf-5 and Mi Resistance Loci in Tomato / M.J. Dickinson, D.A. Jones // –1993. – Vol. 6. – № 3. –341-347 P.

139. Dixon M.S. The tomato Cf – 5 disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucine – rich repeat copy number / M.S. Dixon, K. Hatzixanthis, D.A. Jones // – 1998. – Vol. 10. –1915 - 1925 P.

140. Finkers P. Three QTLs for *Botrytis cinerea* resistance in tomato / P. Finkers, Y. Bai, M. Berg, P. Lindhout // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2007.- 114(4).- 585- 596 P.

141. Galiba G. RFLP mapping of the vernalization (Vrn1) and frost resistance (Fr1) genes on chromosome 5A of wheat / G. Galiba, S.A. Quarrie, J. Sutka, A. Morgounov, J. Snape // Theor. Appl. Genet. 1995. V.90. P.1174–1179.
142. Gebhardt C. RFLP maps of potato and their alignment with the homoeologous tomato genome / C. Gebhardt, E. Ritter, A. Barone, T. Debener, B. Walkemeier, U. Schachtschabel, H. Kaufmann, R.D. Thompson, M.W. Bonierbale, M.W. Ganai, S.D. Tanksley, F. Salamini // Theor. Appl. Genet. 1991. V. 83. Pp. 49–57.
143. Giordano L. D. A Tosspovirus – resistant processing tomato cultivar adapted to tropical environments / L. D. Giordano, A.C. Avila, J.M. Charchar // Hort. Sci. – 2000. – Vol. 35. –1368 –1370 P.
144. Giovanni C. Identification of PCR-based markers (RAPD, AFLP) linked to a novel powdery mildew resistance gene (ol-2) in tomato / C. Giovanni, A. Dell'Orco, F. Bruno, C. Ciccarese // PlantScience. Vol. 166, No.1. -2004 P. 41-48.
145. Goto E. Effects of Light Quality on Growth of Crop Plants under Artificial Lighting / Goto E. // Environ. Control in Biol. – 2003. №41(2), p. 121-132.
146. Guimaraes R.L. Resistance to B.cinerea in S.lycopersicoides is dominant in hybrids with tomato, and involves induced hyphal death / R.L. Guimaraes, R.T. Chetelat, H.V. Stotz// Eur. J. Pt. Path. – 2004. 110: 13-23 P.
147. H. Pereira de Costa QTLs detection for fruit quality traits in a cross among and Argentinean tomato cultivar and a Solanum pimpinellifolium / H. Pereira de Costa, A. Orlandini, A. Tatiana // Moll Plant Microbe Interact. – 2010. – May № 23 (5).–539-548 P.
148. Haanstra J.P., The Cf- ECP2 gene is linked to, but not part of, the Cf120 4/Cf-9 cluster on the short arm of chromosome 1 in tomato / J.P. Haanstra, R. Laugé // – 1999. – Vol. 262. – № 4. –839-845 P.
149. Hanson P. Ty-2, a gene on chromosome 11 conditionind geminivirus resistance in tomato / P. Hanson, S. Green, G. Kuo // Roport of the Tomato Genetics Cooperative, 2006. - № 56. – 17-18 P.
150. Heubl G. DNA-based authentication of TCM-plants: current progress and future perspectives. Evidence and National Based Research on Chinese

- Drugs. Eds H. Wagner, G. Ulrich-Merzenich. Vienna: Springer Vienna. 2013.
151. Huang C.-C. Development of diagnostic PCR markers closely linked to the tomato powdery mildew resistance gene Ol-1 on chromosome 6 of tomato / Cai-Cheng Huang, Y.Y. Cui, C.R. Weng, P. Zabel, P. Lindhout // –Theoretical and Applied Genetics. 2000, 101: 5-6, 918-924.
152. Huang C.C. The resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum*) in *Lycopersicon* species is mainly associated with hypersensitive response / C.C. Huang, T. Groot, F. Meijer-Dekens, R.E. Niks, P. Lindhout // European Journal of Plant Pathology 104. – 1998. 399-407.
153. Huang, C. C. Characterization and mapping of resistance to *Oidium lycopersicum* in two *Lycopersicon hirsutum* accessions: evidence for close linkage of two Ol-genes on chromosome 6 of tomato / C.C. Huang, F. Meijer-Dekens, P. Lindhout // - 2000. Heredity 85, 511-520.
154. Ji Y. Ty-3 a begomovirus resistance locus linked to Ty-1 on chromosome 6 of tomato. / Y. Ji, J.W. Scott // TGS Reports, 2006. - № 56: 22-24 P.
155. Ji Y. Ty-3, a begomovirus resistance locus near the Tomato yellow leaf curl virus resistance locus Ty-1 on chromosome 6 of tomato. / Y. Ji, J.W. Scott // Mol Breed, 2007. - № 20: 271-284 P.
156. Jing H.C. DArT markers: diversity analyses, genomes comparison, mapping and integration with SSR markers in *Triticum monococcum* / H.C. Jing et al. // BMC Genomics. 2009. V. 10. P. 458.
157. Jones D.A. Locations of genes for resistance to *Cladosporium fulvum* on the classical and RFLP maps of tomato / D.A. Jones, P.J. Balint-Kurti, M.J. Dickinson // TGC Report, 42. – 1992. - 19-21 P.
158. Joy N. A preliminary assessment of genetic relationships among agronomically important cultivars of black pepper / N. Joy, Z. Abraham, E.V. Soniya // BMC Genet. 2007. V. 8. P. 42.
159. Kimura S. Tomato (*Solanum lycopersicum*): A Model Fruit-bearing Crop / S. Kimura, N. Sinha // Emerging Model Organisms: a Laboratory Manual. - New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008. - Vol. 1. - 119-138.

160. Korzun V. Use of molecular markers in cereal breeding / V. Korzun. - Cellular and Molecular Biology Letters. 2002. V. 7. P. 811–820.
161. Kostova A. Assessment of genetic variability induced by chemical mutagenesis in elite maize germplasm via SSR markers / A. Kostova, E. Todorovska, Christov N. // J. Crop Improv. 2006. V. 16. P. 37–48.doi: 10.1300/J411v16n01_03
162. Lanfermeijer F.C. Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene Tm-22 from *Lycopersicon esculentum* / F.C Lanfermeijer, J. Dijkhuis, M.J.G. Sturre //. Plant Molecular Biology – 2003.– Vol. 52. –1037-1049 P.
163. Li C. Biochemical and molecular mechanisms involved in monogenic resistance responses to tomato powdery mildew / C. Li, G. Bonnema, D. Che // Molecular Plant-Microbe Interactions 20. – 2007. 1161-1172.
164. Li C. Tomato defense to the powdery mildew fungus: differences in expression of genes in susceptible, monogenic-and polygenic resistance responses are mainly in timing / C. Li, Y. Bai, , P. Lindhout // Plant Molecular Biology 62. – 2006. 127-140.
165. Lindhout P. Screening wild *Lycopersicon* species for resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum*) / P. Lindhout, G. Pet, H. Beek // Euphytica 72, 1993.- 43-49.
166. Lu X.P. Diversity arrays technology (DArT) for studying the genetic polymorphism of flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum*) / X.P. Lu, B.G. Xiao, Y .P. Li // Journal of Zhejiang University SCIENCE B.2013a. V. 14. No. 7. P. 570–577. doi: 10.1631/jzus.B1200227
167. Luckwill, L. C. The genus *Lycopersicon*. An historical, biological, and taxonomic survey of the wild and cultivated tomatoes / L. C. Luckwill. - Aberdeen University Studies. - № 120. - Aberdeen University Press, 1943. - 44 p.
168. Matos M. Phylogenetic relationships among Portuguese rye based on isozyme, RAPD and ISSR markers / M. Matos, O. Pinto-Carnide, C. Benito // Hereditas. 2001. V. 134. P. 229–236.doi: 10.1111/j.1601-5223.2001.00229.x
169. Mejia L. Preliminary observa-tions on the effectiveness of five introgressions for resistance to be-gomoviruses in tomatoes / L. Mejia, B.E.

- Garcia, A.S. Fulladolsa, // TGC Report, 2010. - № 60. – 41-53 P
170. Meuwissen T.H.E. Prediction of total genetic value using genome – wide dense marker maps / T.H.E. Meuwissen ., B.J. Hayes , M.E. Goddard // Genetics. 2001. V. 157. P. 1819–1829.
 171. Moose S.P. Molecular plant breeding as the foundation for 21 century crop improvement / S.P. Moose, R.H. Mumm // Plant Physiol. 2008. – V.147. – 969-977 P
 172. Motoyoshi F. Expression of genetically controlled resistance to tobacco mosaic virus infection in isolated tomato leaf mesophyll protoplasts / F. Motoyoshi, N. Oshima // J. Gen. Virol. . –1998. – Vol. 34. –499-506 P.
 173. Mueller U.G., AFLP genotyping and fingerprinting / U.G. Mueller, L.R. Wolfenbarger // Tree. 1999. V. 14. No. 10. P. 389–394
 174. Nimchuk Z. Recognition and response in the plant immune system / Z. Nimchuk, T. Eulgem, B. E. Holt // Annual Review of Genetics 37. – 2003. 579-609.
 175. Okie W.R. Screening tomato seedling for resistance to *Verticillium dahlia* races 1 and 2 / W.R. Okie, R.G. Gardnet // - 1982. – Vol. 66. –34 – 37 P.
 176. Olivera P.D. Development of a genetic linkage map for Sharon goatgrass (*Aegilops sharonensis*) and mapping of a leaf rust resistance gene / P.D. Olivera , A. Kilian , P. Wenzl // Genome. 2013. V. 56. No. 7. P. 367–376.
 177. Paterson R.G. Resistance in two *Lycopersicon* species to an Arkansas isolate of tomato spotted wilt virus / R.G. Paterson, S.J. Scott, R.C. Gergerich // –1989. Vol. 43. – N. 1-2. –173 – 178 P.
 178. Peralta, I. E. Taxonomy of wild tomatoes and their relatives (*Solanum* sect. *Lycopersicoides*, sect. *Juglandifolia*, sect. *Lycopersicon*; Solanaceae) / E. Peralta, D. M. Spooner, S. Knapp // Systematic Botany Monographs. - 2008. - Vol. 84. - P. 1-186.
 179. Rayapati P.J. A linkage map of diploid *avena* based on RFLP loci and a locus conferring resistance to 9 isolates of *Puccinia coronatavar. Avenae* / P.J. Rayapati, J.W. Gregory, N. Lee // Theor. Appl. Genet. 1994. V. 89. P. 831 –837.
 180. Roberts P.A., May D., Matthew W.C. Root - knot nematode resistance in processing tomatoes. California agriculture. – 1986. –24 – 26 P.
 181. Rosello S. Resistance to tomato spotted wilt virus introgressed from

- Lycopersicon peruvianum* in line UPV 1 may be allelic to Sw – 5 and can be used to enhance the resistance of hybrids cultivars / S. Rosello, B. Richarte, M.J. Diez // – 2001. – Vol.119. – 357 – 367 P.
182. Sassanfar M. DNA Microarray Technology. What is it and how is it useful? Complement to a lecture given by Eric Lander / M. Sassanfar, G. Walker // Department of Biology Massachusetts Institute of Technology Cambridge, MA. 2003.P. 14.
183. Savelkoul P.H.M. Minireview, Amplified-fragment length polymorphism analysis: The state of an art / P.H.M. Savelkoul et al. // J. Clin. Microbiol. 2001. V. 37. P. 3083–3091
184. Scholthof K.-B.G. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology / K.-B.G. Scholthof, S. Adkins, H. Crosnek // Molecular Plant Pathology 12, 2011. – 934-954 P.
185. Semagn K. Distribution of DArT, AFLP, and SSR markers in a genetic linkage map of a doubled-haploid hexaploid wheat population / K. Semagn, A. Bjornstad, H. Skinnes // Genome. 2006. V. 46. No. 5. P. 545–555.
186. Simons G. Dissection of the *Fusarium* I2 gene cluster in tomato reveals six homologs and one active gene copy / G. Simons, J. Groenendijk, M. Wijbrandi // Plant Cell. – 1998. – Vol. 10.–1055-1068 P.
187. Smart C.D. Resistance to *Phytophthora infestans* in *Lycopersicon pennelli* / Smart C.D., Tanksley S.D., Mayton H., Fry W.E.// Plant disease, 2007. – Vol.91. № 8. –1045-1049 P.
188. Sobczak M. Characterization of susceptibility and resistance responses to potato cyst nematode (*Globodera* spp.) infection in tomato lines in the absence and presence of the broad-spectrum nematode resistance *Hero* gene / M. Sobczak, A. Avrora, J. Jupowicz // - 2005. - 18 (2). - 158-168 P.
189. Soler-Aleixandre S. Sources of resistance to Pepino mosaic virus (PepMV) in tomato / S. Soler-Aleixandre, J. Cebolla – Comejo, F. Nuez // 2006.
190. Solodenko A. Genotyping of *Helianthus* based on microsatellite sequences / A. Solodenko, Y. Sivolap // Helia. 2005.V. 28. No.42. P. 19–26
191. Stevens M.R. Evaluation of seven *Lycopersicon* species for resistance to Tomato spotted wilt virus (TSWV) / M.R. Stevens S.J. Scott, R.C. Gergerich // – 1994. – Vol. 80.– 79-84 P.
192. Stevens M.R. A linkage map of the tomato spotted wilt virus resistance gene

- Sw5 using near isogenic lines and an interspecific cross / M.R. Stevens, D.K. Henry, D.D. Rhoads // *Acta Hort.* – 1996. – Vol 431. –385 –392 P.
193. Tabaeizadeh Z. Transgenic tomato plants expressing a *Lycopersicon chilense* chitinase gene demonstrate improved resistance to *Verticillium dahliae* race / Z. Tabaeizadeh, Z. Agharbaoui, H. Harrak // – 1999. – Vol. 19.– 197 – 202 P.
194. Tanksley S.D. Molecular markers in plant breeding / S.D. Tanksley. - *Plant Mol. Biol. Rep.* 1983. V. 1. Pp. 3–8.
195. Van der Beek, J. Resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum*) in *Lycopersicon hirsutum* is controlled by an incompletely-dominant gene Ol-1 on chromosome 6. / J. Van der Beek, G. Pet, P. Lindhout // *Theoretical and Applied Genetics* 89. – 1994. 467-473.
196. Veremis J.C. Mapping a novel heatstable resistance to *Meloidogyne* in *Lycopersicon peruvianum*. / J.C. Veremis, P.A. Roberts //– 1999. – Vol. 98. –274–280 P.
197. Verlaan M. G. The Tomato Yellow Leaf Curl Virus Resistance Genes *Ty-1* and *Ty-3* Are Allelic and Code for DFDGD-Class RNA-Dependent RNA Polymerases / Maarten G. Verlaan , Samuel F. Hutton , Yuling Bai // *Plos genetics*. – 2013.
198. Wenzl P. Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley / P. Wenzl, J. Carling, D. Kudrna, // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. - 2004. V. 101. No. 26. P .9915–9920.
199. Wiesner I. Insertion of a reamplification round into the ISSR-PCR protocol gives new flax fingerprinting patterns / I. Wiesner, D. Wiesnerova // *Cell. and Mol. Biol. Letters*. 2003. No.8. P. 743–748.
200. Williams J.G. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J.G. Williams, A.R. Kubelik , K.J. Livak // *Nucleic Acids Res.* 1990. V. 18. P. 6531–6535.
201. Yaghoobi J. Fine mapping of the nematode resistance gene *Mi-3* in *Solanum peruvianum* and construction of a *S. lycopersicum* DNA contig spanning the locus / J. Yaghoobi, J.L. Yates, V.M. Williamson // - 2005. - Aug; 274(1): 60-69 P.
202. Zhao J. Genetic relationships within *Brassica rapa* inferred from AFLP fingerprints / J. Zhao et al.// *Theor.Appl. Genet.* 2005. V. 110. P. 1301–1314.

203. Zhu Y. Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using ISSR and fluorescence-labeled TP-M13-SSR markers / Y. Zhu, J. Hu , R. Han // Australian Journal of Crop Science. 2011. V. 5 No. 7. P. 846–850.

ПРИЛОЖЕНИЕ

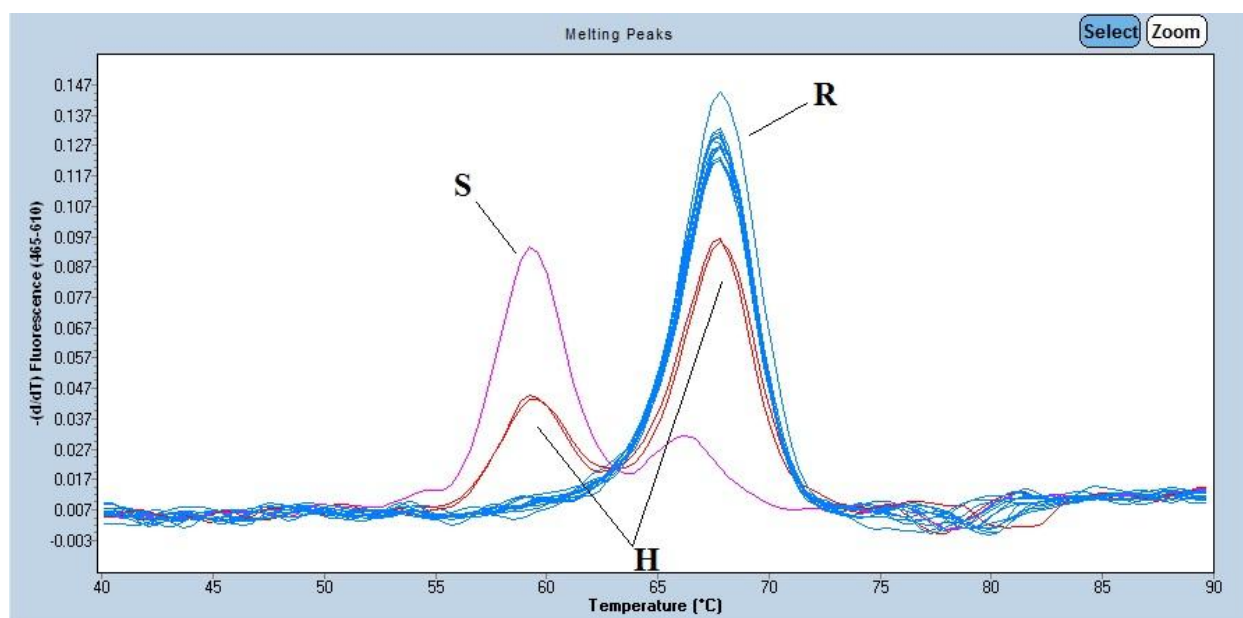


Рисунок 1 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости к фузариозному увяданию томата у растений F_1 с использованием гибридизационных зондов Real-time PCR

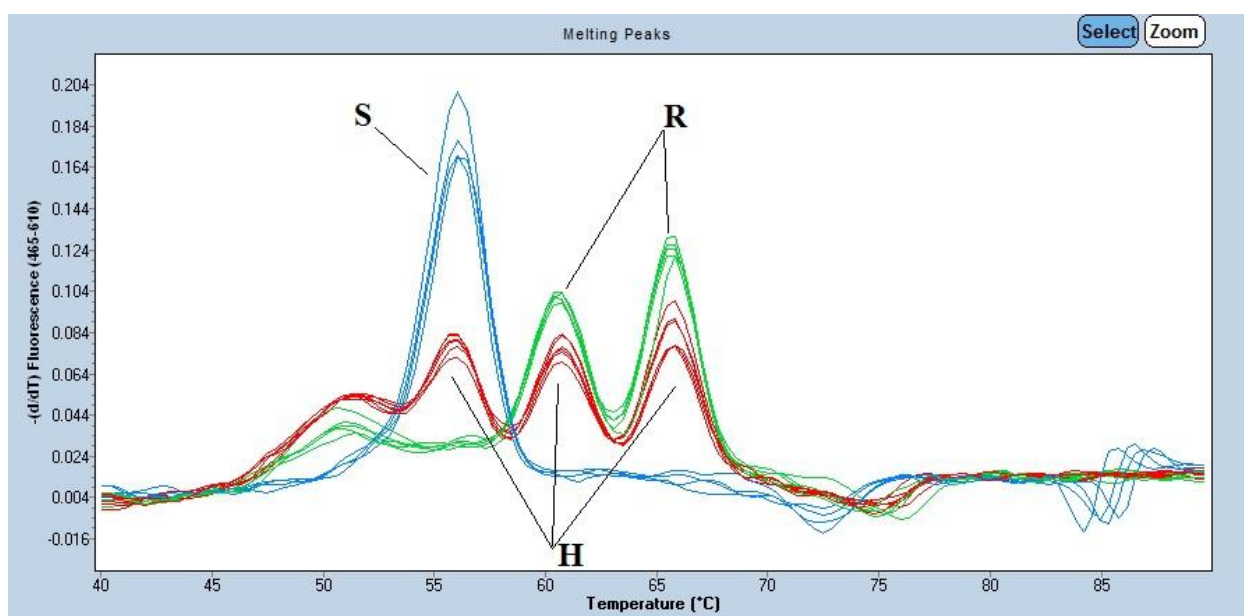


Рисунок 2 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости к бурой пятнистости томата у растений F_1 с использованием гибридизационных зондов Real-time PCR

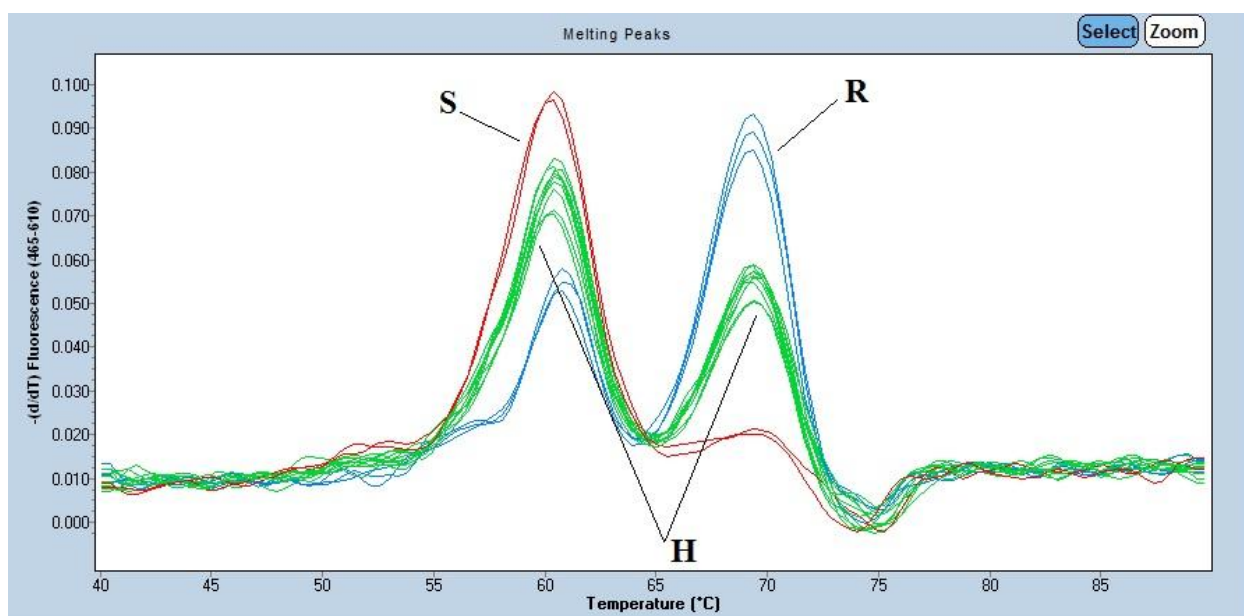


Рисунок 3 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости к вертициллезному увяданию томата у растений F_1 с использованием гибридизационных зондов Real-time PCR

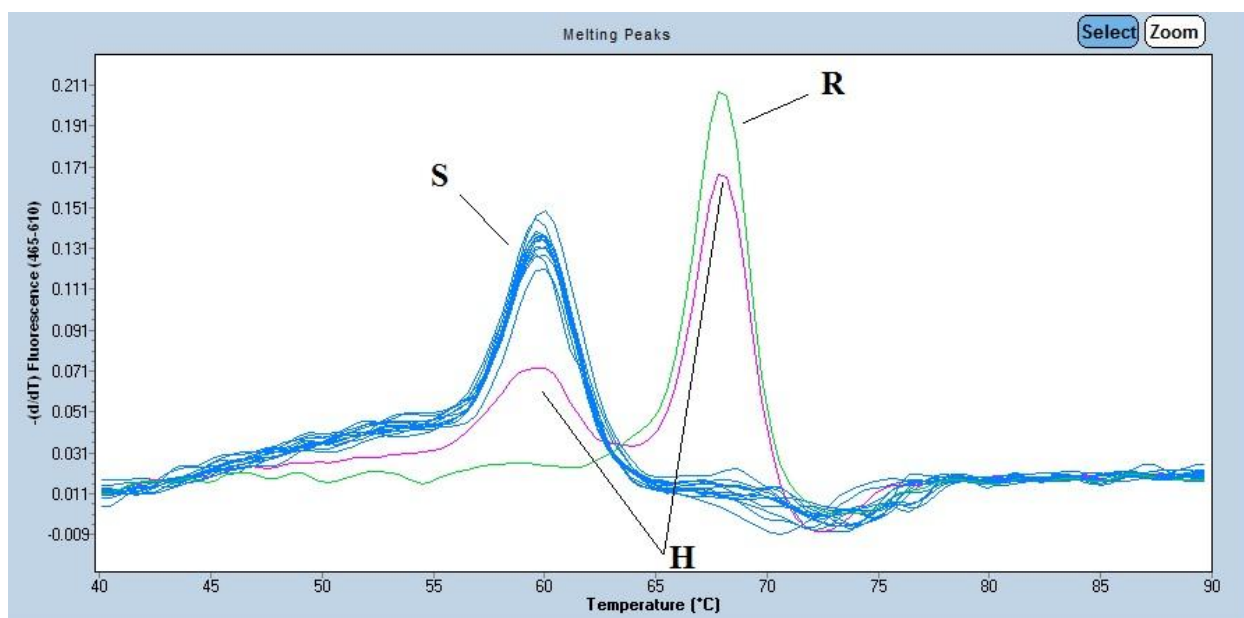


Рисунок 4 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости к галловой нематоде у растений F_1 с использованием гибридизационных зондов Real-time PCR

АРКАИМ

Культура: **Томат (*Solanum lycopersicum* L. var. *lycopersicum*)**

Группа: **Овощные**

Описание: Включён в Госреестр по 1,3и 5 световым зонам для выращивания в остеклённых и плёночных теплицах в зимне-весеннем, весенне-летнем и продлённом оборотах. Гибрид среднеспелый, салатный. Растение индетерминантное, высокорослое. Соцветие простое. Плод плоскоокруглый, плотный, окраска плода красная. Число камер - более 6. Масса плода - 208-282 г. Вкус отличный. За годы испытания товарная урожайность в зимних теплицах в продлённом обороте на малообъёмной культуре составила в среднем 33,8 кг/кв.м, на 3,2 кг/кв.м выше стандарта F1 Апофеоз. Урожайность за 1 месяц плодоношения составила 3,9 кг/кв.м, на 0,2 кг/кв.м выше стандарта. Товарная урожайность в плёночных теплицах составила 10,9-17,5 кг/кв.м, на 0,8-0,6 кг/кв.м выше стандартов F1 Красная комета, F1 Таганрог. Выход товарной продукции - 97,2-99,6%. Имеет комплексную устойчивость к заболеваниям.

Автор(ы): **ГАВРИШ СЕРГЕЙ ФЕДОРОВИЧ, АРТЕМЬЕВА ГАЛИНА МИХАЙЛОВНА, РЕДИЧКИНА ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА, КИБАНОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСЕЕВНА, БУЦ АЛЕКСЕЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ**

Характеристики: *Категория:* гибрид первого поколения, *Направление использования:* салатный, *Срок созревания (гр. спелости):* средний (среднеспелый), *Тип растения:* индетерминантное, *Условия выращивания:* защищенный грунт, *Форма:* плоскоокруглая

Допуск:

Номер заявки на допуск: **74218**

Заявители: **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ'**

Дата регистрации заявки на допуск: **28.11.2017**

Год включения в реестр допущенных: **2020**

Регион: **Северный, Центральный, ЦЧО**

Оригинатор(ы): **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ'** (127287, Г. МОСКВА, УЛ. 2-Я

Выписка из реестра ФГБУ "ГОССОРТКОМИССИЯ" на 14:49 25.05.2021, страница 2
ХУТОРСКАЯ, Д.11, СТР.1) **ООО 'НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЕКЦИИ
ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР'** (127006, Г. МОСКВА, А/Я 67)

Заявка на охрану:

Номер заявки на охрану: **80838**

Дата регистрации заявки на охрану: **03.03.2020**

Патентообладатель(и): **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ'** (127287, Г. МОСКВА, УЛ. 2-
Я ХУТОРСКАЯ, Д.11, СТР.1)

КРЕЩЕНДО

Культура: **Томат (*Solanum lycopersicum* L. var. *lycopersicum*)**

Группа: **Овощные**

Описание: **Включён в Госреестр по 1,2,3и 5 световым зонам для выращивания в остеклённых и плёночных теплицах в зимне-весеннем, весенне-летнем и продлённом оборотах. Гибрид среднеспелый, салатный. Растение индетерминантное, высокорослое. Соцветие простое. Плод плоскоокруглый, плотный, окраска плода красная. Число камер - более 6. Масса плода -153-335 г. Вкус отличный. За годы испытания товарная урожайность в зимних теплицах в продлённом обороте на малообъёмной культуре составила в среднем 35,2 кг/кв.м, на 4,6 кг/кв.м выше стандарта F1 Апофеоз. Урожайность за 1 месяц плодоношения составила 4,6 кг/кв.м, на 0,9 кг/кв.м выше стандарта. Товарная урожайность в плёночных теплицах составила 11,8-18,0 кг/кв.м, на 1,1 кг/кв.м на уровне и выше стандартов F1 Раиса, F1 Таганрог. Выход товарной продукции - 94,8-99,8%.**

Автор(ы): **ГАВРИШ СЕРГЕЙ ФЕДОРОВИЧ, АРТЕМЬЕВА ГАЛИНА МИХАЙЛОВНА, РЕДИЧКИНА ТАТЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА, КИБАНОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСЕЕВНА, БУЦ АЛЕКСЕЙ ВАЛЕРЬЕВИЧ**

Характеристики: **Категория: гибрид первого поколения, Направление использования: салатный, Срок созревания (гр. спелости): средний (среднеспелый), Тип растения: индетерминантное, Условия выращивания: защищенный грунт, Форма : плоскоокруглая**

Допуск:

Номер заявки на допуск: **74217**

Заявители: **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ'**

Дата регистрации заявки на допуск: **28.11.2017**

Год включения в реестр допущенных: **2020**

Регион: **Северный, Северо-Западный, Центральный, ЦЧО**

Оригинатор(ы): **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ' (127287, Г. МОСКВА, УЛ. 2-Я ХУТОРСКАЯ, Д.11, СТР.1)ООО 'НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЕКЦИИ**

Заявка на охрану:

Номер заявки на охрану: **80837**

Дата регистрации заявки на охрану: **03.03.2020**

Патентообладатель(и): **ООО 'СЕЛЕКЦИОННАЯ ФИРМА ГАВРИШ'** (127287, Г. МОСКВА, УЛ. 2-
Я ХУТОРСКАЯ, Д.11, СТР.1)