



МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА
(ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

На правах рукописи

Хунвану Виньину Никэз

**СЕЛЕКЦИЯ ИНДЕТЕРМИНАНТНОГО ТОМАТА С РОЗОВЫМИ
ПЛОДАМИ**

Специальность: 4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:
Монахос Сократ Григорьевич,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

Москва – 2026

Оглавление

Оглавление	2
ВВЕДЕНИЕ	6
Актуальность темы исследования	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1-1 Использование маркерной селекции в селекции сельскохозяйственных растений	16
1-2 Применение молекулярных маркеров в селекции томата на устойчивость к грибным заболеваниям	17
1-2-1 Устойчивость томата к альтернариозу	17
1-2-3 Устойчивость томата к черной плесени	18
1-2-2 Устойчивость к пробковой гнили корней томата	19
1-2-4 Устойчивость томата к антракнозу	20
1-2-5 Устойчивость томата к фузариозной гнили корневой шейки и корней.	20
1-2-6. Устойчивость томата к фузариозному увяданию	21
1-2-7 Устойчивость томата к вертициллезному увяданию	23
1-2-8 Устойчивость томата к фитофторозу	29
1-2-9. Устойчивость томата к кладоспориозу	31
1-2-10. Устойчивость томата к настоящей мучнистой росе	32
1-3 Молекулярные маркеры, используемые в селекции вирусоустойчивых томата	39
1-3-1 Устойчивость томата к вирусу томатной мозаики	39
1-3-2 Устойчивость томата к вирусу желтой курчавости листьев	41
1-3-3 Устойчивость томата к бронзовости	42
1-3-4 Устойчивость к вирусу коричневой морщинистости плодов томата	43

1-4 Устойчивость томата к нематодам.....	49
1-5 Комбинационная способность.....	52
1-6 Функциональная мужская стерильность (ФМС).....	53
1.6.1. Цитоплазматическая мужская стерильность	53
1.6.2. Ядерный генетический контроль мужской стерильности.....	54
1.6.3. Ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность	55
1.6.4. Функциональная мужская стерильность у томата	56
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	58
2.1 Материалы	58
2-1-1. Скрининг коллекции линий томата по генам устойчивости к наиболее значимым заболеваниям.	58
2-1-2. Оценка комбинационной способности линий томата.....	58
2-1-3. Скрининг устойчивости и восприимчивых к фитофторозу	60
2-2. Методы исследований.....	61
2-2.1 Выделение ДНК.....	61
2-2.2 ПЦР-амплификация геномной ДНК.....	61
2-2.3 Различные составы реакционных смеси.	65
2-2.4 Методка анализа комбинационной способности	68
2-2.5 Оценка устойчивости/восприимчивости к фитофторозу.....	69
2-2.6 Статистический анализ	71
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ	72
3-1 Молекулярно-генетический скрининг генетической коллекции (линий) томата по генам устойчивости (I_2 , Ve , $Mi23$, $Tm-2^2$, $Cf-2$, $Cf-5$, $Sw5$, $Ph3$, $Ty-2$, $Ol-1$) к наиболее значимым заболеваниям	72

3-1-1 Наличие генов устойчивости к фузариозному увяданию и вертициллезу у изученных линий томата.....	72
3-1-2 Наличие генов устойчивости к кладоспориозу, фитофторозу, бронзовости и нематодам, мучнистой росе, вирусу желтой курчавости листьев томата (TYLCV) и вирусу томатной мозаики у изученных линий томата	78
3-1-3 Изучение и дифференциация стерильных и фертильных линии томата по числу генов устойчивости к болезням.	91
3-1-3 Оптимизирование условия молекулярно-генетического скрининга линий томата на гены устойчивости/восприимчивости к фузариозу и вертициллезу.	94
3-1-4 Оптимизирование условия молекулярно-генетического скрининга линий томата на гены устойчивости к кладоспориозу, фитофторозу, бронзовости, нематодам, вирус желтой курчавости листового и мучнистая роса	95
3-2 Изучение гибридов, комбинационной способности стерильных и фертильных линий по основным хозяйственным признакам	96
3-2-1 Число листьев до первого соцветия гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий	96
3-2-2 Продолжительность периода «всходы – начало цветения» гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий	100
3-2-3 Продолжительность периода «всходы – начало созревания» гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий	103
3-2-4 Число плодов на одном растении гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий	107
3-2-5 Масса товарных плодов на растение (продуктивность)	110

3-2-6 Корреляция между хозяйственными признаками у изучаемых гибридов F1.....	113
3-2-7 Изучение проявления признаков и выделение перспективных гибридных комбинаций индетерминантного розовоплодного томата устойчивых к наиболее вредоносным заболеваниям.....	115
3-3 Оценка фенотипического проявления устойчивости к фитофторозу линий томата и молекулярно-генетический скрининг с использованием молекулярных маркеров генов <i>Ph3</i> и <i>R</i>	120
3-3-1 Оценка симптомов проявления фитофтороза линий томата на инфекционном фоне в открытом грунте	120
3-3-2 Оценка коллекции образцов томата на устойчивость к фитофторозу на инфекционном фоне	123
3-3-3 Определение наличия гена <i>Ph3</i> у линий томата Кр6	125
3-3-4 Определение наличия гена <i>R1</i> в геноме линий томата Кр6	128
Заключение	134
Рекомендации для селекции и производства	137
Благодарность	138
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	139
Библиографический список	140
Приложение I. Состав различных реакционных смесей и различные условия проведения ПЦР для оптимизации условий проведения ПЦР	161

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Томат (*Solanum lycopersicum* L. var. *lycopersicum*) по объемам потребления в мире является первым овощем после картофеля. Он принадлежит к семейству Пасленовых насчитывающим 100 родов и 2500 видов растений (Щербань А.Б., 2019). Томат выращивают в мире на площади почти 5 миллионов гектаров каждый год, производя более 186 миллионов тонн томатов при средней урожайности 36,97 т/га (Продовольственная и сельскохозяйственная организация объединенных наций). По экспертным оценкам объем рынка томата достигнет 207,17 млрд долларов США в 2024 году и, как ожидается, достигнет 261,41 млрд долларов США к 2029 году, при ежегодном увеличении на 4,76% в течение прогнозируемого периода (2024-2029 гг.) (<https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/tomato-market>). Он адаптирован к очень разнообразным условиям выращивания и предназначен для потребления в свежем виде или промышленной переработке. Плоды томата представляют собой ценный источник биологически активных соединений, включая провитамин А, витамин С, минеральные элементы и ряд других физиологически значимых компонентов. Существенную роль в формировании биологической ценности плодов играет ликопин — каротиноидный пигмент, обладающий выраженными антиоксидантными свойствами (Rao A.V., Rao L.G., 2007).

По оценкам ВОЗ (2002), достаточное потребление плодов томата позволяет снизить заболеваемость сердечно-сосудистыми заболеваниями на 31%, инсультом на 11% и раком желудочно-кишечного тракта на 20–30%.

Одним из основных факторов, ограничивающих продуктивность и качество продукции томата (*Solanum lycopersicum* L.), является поражение растений фитопатогенными организмами. К числу наиболее распространённых и экономически значимых заболеваний относятся фузариозное увядание, вызываемое *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, вертициллёз — *Verticillium dahliae*, фитофтороз — оомицетом *Phytophthora*

infestans, кладоспориоз (листовая плесень) — *Passalora fulva*, а также мучнистая роса, возбудителем которой является *Oidium neolycopersici*. Существенный ущерб томатному производству могут также наносить вирусные заболевания, в частности бронзовость томата, вызываемая вирусом пятнистого увядания томата (Tomato spotted wilt virus, TSWV), и жёлтая курчавость листьев томата, вызываемая вирусом жёлтой курчавости листьев томата (Tomato yellow leaf curl virus, TYLCV). Среди почвообитающих фитопатогенов значительное значение имеют галловые нематоды, в том числе *Meloidogyne incognita*. (Jones J. B., al., 2016). Одним из ключевых направлений развития селекции томата во второй половине XX века стало формирование генотипов, сочетающих адаптивность к широкому спектру условий выращивания с улучшенными показателями качества плодов и повышенной устойчивостью к возбудителям заболеваний (Foolad, 2012).

В этом контексте широко используются генетические ресурсы в том числе дикие виды, родственные культивируемым томатам, в частности, для поиска и интрогрессии генов устойчивости к патогенам (Ercolano M.R., 2012). Сегодня с появлением новых технологий стало проще внедрять новые гены в геном томата, чтобы улучшить его характеристики. В этой связи использование молекулярных маркеров в программах селекции томата стало постоянным явлением.

Одним из ключевых условий повышения эффективности селекции гетерозисных гибридов является рациональный подбор родительских компонентов с высокой способностью к комбинации хозяйственно ценных признаков. От правильности выбора исходных форм во многом зависят уровень продуктивности и скороспелости получаемого гибридного потомства, а также возможность одновременного объединения в одном генотипе генов, обуславливающих устойчивость к различным заболеваниям. В связи с этим особую значимость приобретает комплексная оценка комбинационной способности фертильных и мужски стерильных линий по основным хозяйственно ценным признакам с определением характера и степени их

проявления в гибридном потомстве. Дополнение фенотипической оценки результатами молекулярно-генетического анализа позволяет выявить взаимосвязи между генотипическими особенностями родительских форм и проявлением признаков у гибридов. Такой комплексный подход способствует более обоснованному выбору перспективных родительских комбинаций и повышает результативность селекционной работы, направленной на создание высокопродуктивных, скороспелых и устойчивых к болезням гетерозисных гибридов.

Степень разработанности темы

Знания о наиболее значимых генах устойчивости томата к болезням и их молекулярных маркерах являются существенным преимуществом в селекции томата. На сегодняшний день разработаны многочисленные маркеры генов устойчивости томата. Так, маркеры гена I2 устойчивости к фузариозному увяданию разработаны Куклев М.Ю. с соавторами (2006). Также были идентифицированы маркеры генов устойчивости к вертициллезу Ve1 и Ve2; однако было продемонстрировано, что пара праймеров VF+VR в сочетании с флуоресцентным зондом, по-видимому, более эффективна при обнаружении гена Ve устойчивости к вертициллезу (Куклев М.Ю. и др., 2006). Также З. Е. Грушецкой и соавт. (2005, 2007) установлена информативность молекулярно-генетических маркеров, предназначенных для выявления локусов Cf-2, Cf-5 и Cf-6, связанных с генетической устойчивостью томата к кладоспориозу. Гены Ph-2 и Ph-3 определяли по маркерам dTG422 и TG328 соответственно. Известно, что комбинация генов Ty-3 + Ty-2 не исключает вирусную инфекцию, и следует изучить возможность создания новых комбинаций генов устойчивости, таких как Ty-3, Ty-5 и Ty-2 (Hanson P. et al., 2016). Новые маркеры CAPS были разработаны на основе известных последовательностей tm-2 и Tm-2², а также последовательности Tm-2. Эти CAPS-маркеры основаны на отсутствии сайта HpaI в tm-2, который присутствует как в Tm-2, так и в Tm-2² локусах, и единственном присутствии сайта BfrI в Tm-2².

Систематические усилия по селекции томата начались в 1930-х годах, когда началась селекция с целью улучшения общих хозяйственно ценных признаков и характеристик томата. Томат стал одной из первых культур, для которых были разработаны и предложены молекулярные маркеры как инструмент косвенной оценки и отбора ценных генотипов в селекционном процессе (Tanksley, 1983). За прошедшие годы было идентифицировано несколько молекулярных маркеров, связанных с генами устойчивости томата к различным заболеваниям. Такие исследователи, как Robbins, Grushetskaya, Huang, Arens и другие, внесли значительный вклад в картирование локусов устойчивости и идентификацию молекулярных маркеров, ассоциированных с устойчивостью томата к различным заболеваниям (Robbins et al., 2010; Grushetskaya et al., 2007; Huang et al., 2000; Arens et al., 2010). Однако эффективность этих генов при внедрении в геном растений томата, восприимчивых к болезням остается и остается серьезной проблемой. Сочетание нескольких генов устойчивости в одном геноме оказывается наиболее эффективным способом защиты растений (Беспалова и др., 2012).

Цели и задачи исследования

Цель данного исследования состоит в изучении генетических источников хозяйственно-ценных признаков с использованием методов гибридологического и молекулярно-генетического анализа и создание чистых линий и F1-гибрида индетерминантного томата с розовыми плодами с групповой устойчивостью к заболеваниям.

Для достижения цели были определены следующие задачи:

1. Проведён молекулярный скрининг с целью выявления полиморфизма ДНК-маркеров, ассоциированных с генами и локусами устойчивости томата к девяти наиболее значимым заболеваниям. Исследуемые маркеры характеризовали устойчивость к фузариозному увяданию (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) посредством гена I-2, к вертициллёзному увяданию (*Verticillium dahliae*) — посредством локуса Ve, а также к кладоспориозу (*Cladosporium fulvum*) — посредством локусов Cf-2/Cf-

5 и Cf-6. Устойчивость к фитофторозу, вызываемому *Phytophthora infestans*, оценивали с использованием маркеров R1, R3a и Ph-3. Маркер Sw-5 использовали для характеристики устойчивости к вирусу бронзовости томата (*Tomato spotted wilt virus*), а Mi-23 — для оценки устойчивости к галловым нематодам, в частности *Meloidogyne incognita*. Маркеры Ol-1 и Ol-3 применяли для оценки устойчивости к мучнистой росе (*Oidium neolycopersici*), тогда как Tu-2, Tu-3 и Tu-3a использовали для характеристики устойчивости к вирусу жёлтой курчавости листьев томата (*Tomato yellow leaf curl virus*). Наконец, маркеры Tm-2 и Tm-2² исследовали в связи с устойчивостью к вирусу мозаики томата (*Tomato mosaic virus*) с использованием генетической коллекции линий индетерминантного розовоплодного томата (*L. esculentum*);

2. Молекулярно-генетическое изучение и дифференциация линий с функциональной мужской стерильностью и фертильных линий томата по числу генов устойчивости к болезням (*I₂*, *Ve*, *Mi23*, *Tm-2²*, *Cf-2*, *Cf-5*, *Sw5*, *Ph3*, *Tu-2*, *Ol-1*), выделение линий, содержащих наибольшее число генов устойчивости;

3. Оценка устойчивости к фитофторозу генетической коллекции (линии Кр-1 – Кр-14) томата на естественном/искусственном инфекционном фоне; выявление образцов томата с генетической устойчивостью к фитофторозу и изучение характера ее наследования; молекулярно-генетический скрининг устойчивых и восприимчивых к фитофторозу линий томата с использованием молекулярного маркера гена *Ph3*;

4. Изучение комбинационной способности линий томата при оценке хозяйственно-ценных признаков гибридных комбинаций, полученных в системе топкросс;

5. Проведён корреляционный анализ взаимосвязей между основными хозяйственно ценными признаками растений томата — числом листьев до первого соцветия, продолжительностью периодов «всходы—цветение» и «всходы—созревание», числом плодов на растении и

продуктивностью растений — с использованием экспериментальных данных, полученных в результате испытания F₁-гибридов;

6. Изучение проявления хозяйственно ценных признаков и выделение перспективных гибридных комбинаций индетерминантного розовоплодного томата, характеризующихся устойчивостью к наиболее вредоносным заболеваниям и патогенам: фузариозному увяданию (ген I-2), вирусу бронзовости томата (ген Sw-5), вертициллёзному увяданию (ген Ve), вирусу мозаики томата (ген Tm-2²), кладоспориозу (гены Cf-2 и Cf-5), галловым нематодам (ген Mi-1.2), вирусу жёлтой курчавости листьев томата (ген Tu-3a) и мучнистой росе (ген Ol-1).

Научная новизна

Впервые в России с использованием отечественной генетической коллекции при испытании на инфекционном фоне показан моногенный доминантный контроль проявления устойчивости томата (*L. esculentum*) к фитофторозу (возбудитель - *Phytophthora infestans*).

Впервые с использованием молекулярных маркеров известных генов устойчивости (*R1*, *R3a*, *Ph-3*) установлено наличие гена *Ph-3* в генетической коллекции линий розовоплодного индетерминантного томата.

Впервые выявлены линии индетерминантного розовоплодного томата с функциональной мужской стерильностью и групповой устойчивостью к девяти наиболее вредоносным заболеваниям, характеризующиеся высокими положительными эффектами ОКС по числу листьев до первого соцветия, числу плодов на растении и массе товарных плодов на растение, а также отрицательными эффектами ОКС по продолжительности периодов от всходов до начала цветения и до начала созревания.

Впервые для генетической коллекции розовоплодного индетерминантного томата установлена положительная корреляционная связь средней силы ($r = 0,58$) между числом плодов на растении и продолжительностью периода от всходов до созревания. Для остальных

изученных сочетаний хозяйственно ценных признаков статистически значимых корреляционных связей не установлено.

Теоретическая и практическая значимость

На основе комплексной оценки, включавшей фенотипический анализ, оценку устойчивости растений на инфекционном фоне и молекулярно-генетический анализ, в генетической коллекции розовоплодного индетерминантного томата выделена линия Кр-14 — донор моногенной доминантной устойчивости к фитофторозу, вызываемому *Phytophthora infestans*. Выделенная линия представляет теоретический интерес как источник генетической устойчивости к фитофторозу и практическую ценность для селекции индетерминантного розовоплодного томата, в частности в качестве исходного материала при создании сортов и гибридов, устойчивых к данному заболеванию.

Впервые в генетической коллекции томата (*Solanum lycopersicum*) с использованием молекулярных маркеров, ассоциированных с 15 генами устойчивости, выявлены 17 линий, содержащих сочетания девяти генов и локусов устойчивости: I-2, Ve, Mi, Tm-2², Cf-5, Sw-5, Ph-3, Ty и Ol. Выделенные линии характеризуются генетической устойчивостью к комплексу наиболее значимых заболеваний и патогенов томата, включая фузариозное и вертициллёзное увядание, кладоспориоз, фитофтороз, вирус бронзовости томата, галловые нематоды, мучнистую росу, вирус жёлтой курчавости листьев томата и вирус мозаики томата.

Выделенные линии представляют практическую ценность в качестве исходного материала для селекции томата и могут быть использованы как доноры генов групповой устойчивости при создании новых сортов и гибридов с комплексной устойчивостью к заболеваниям.

В результате скрининга 32 молекулярных маркеров 15 генов устойчивости на генетической коллекции индетерминантного розовоплодного томата выявлен полиморфизм 18 (56,25% от исходного числа) молекулярных

маркеров ассоциированных с 10 (66,7% от исходного числа) генами устойчивости к заболеваниям.

Впервые выделены перспективные гибридные комбинации индетерминантного розовоплодного томата: Роз ст (0–12) × РБК1-264, Роз ст 9-1 × РБК1-264 и Роз ст 4-431 × 518-1133. Выделенные гибридные комбинации характеризуются сочетанием комплекса хозяйственно ценных признаков с групповой устойчивостью к семи заболеваниям томата, включая фузариоз (ген I2), вирус бронзовости томата (ген Sw5), вертициллёз (ген Ve), вирус табачной мозаики (ген Tm-22), кладоспориоз (ген Cf-5), нематоду (ген Mi2) и вирус жёлтой курчавости листьев томата (ген Tu-3a).

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности выделенных гибридных комбинаций в качестве исходного материала для дальнейшей селекционной работы. Их использование может способствовать созданию новых сортов и гибридов индетерминантного розовоплодного томата, сочетающих высокую хозяйственную ценность с устойчивостью к комплексу наиболее распространённых заболеваний.

Методология и методы исследования

Теоретические исследования основаны на аналитическом синтезе опубликованных научных результатов. Экспериментальные исследования проводились с использованием стандартных и частных методов и последующей статистической обработки данных. Методика полностью описана в главе «Материалы и методы».

Положения, выносимые на защиту

1. Линия Кр-14 розовоплодного индетерминантного томата обладает моногенной доминантной устойчивостью к фитофторозу (возбудитель - *Phytophthora infestans*);
2. Растения линии Кр-6 (Кр6-1, Кр6-2, Кр6-3, Кр6-4) обладают геном устойчивости к фитофторозу *Ph-3*;
3. Групповая устойчивость 17 выделенных линий розовоплодного индетерминантного томата (Роз ст 0-1, Роз ст 1-3, Роз ст 2(2), Роз ст 3(3),

Роз ст 4-431, Роз ст 5(1), Роз ст 6(3), Роз ст 7(3), Роз ст 8-64, Роз ст 9(121), Роз ст 12(1), Роз ст 13(2), Роз ст 15(1), Роз ст 16(3), Роз ст 20(3), Роз ст 22(3), РБК1251) к девяти заболеваниям: фузариозу, вертициллёзу, кладоспориозу, фитофторозу, вирусу бронзовости томата, нематодам, мучнистой росе, вирусу жёлтой курчавости листьев томата и вирусу мозаики томата.

Степень достоверности

Достоверность исследования подтверждается выбором необходимого количества повторений и объема выборки при проведении экспериментов, а также статистической обработкой полученных экспериментальных данных.

Апробация результатов

Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на российских и международных научных конференциях, семинарах и рабочих совещаниях:

1. XXIII научная конференция молодых учёных «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва, 2023).
2. Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 100-летию со дня рождения академика Г. И. Тараканова (ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва, 2023).
3. Workshop/Conference of the Working Group and Management Committee, COST Action CA18210 «Oxygen sensing: a novel means for biology and technology of fruit quality» (Анталья, Турция, 12 апреля 2023 г.).
4. Международная научная конференция молодых учёных и специалистов, посвящённая 150-летию со дня рождения А. Я. Миловича (2024, т. 2).

Публикация результатов исследований

Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в 4 научных работах, из которых 2 статьи опубликованы в рецензируемых

научных изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, и 2 статьи — в сборниках материалов научных конференций.

Личный вклад соискателя

Соискателем самостоятельно разработана программа исследований, определены основные направления и методические подходы к проведению экспериментальной работы. Автором лично выполнен основной объём экспериментальных исследований, проведены обработка, анализ и систематизация полученных данных, осуществлены научное обобщение и интерпретация результатов. Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечены применением современных методов исследования и статистической обработки экспериментальных данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 164 страницах и включает введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и библиографический список. Работа содержит 22 таблицы и 7 рисунков. Библиографический список включает 158 источников, в том числе отечественных и зарубежных авторов.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1-1 Использование маркерной селекции в селекции сельскохозяйственных растений

Как правило, маркер-опосредованный отбор (MAS) определяется как отбор признака на основе генотипа, ассоциированного с маркером, а не самого признака. Потенциал MAS как средства улучшения урожая широко изучался на различных видах растений, особенно на томатах. В данном контексте генетический маркер, ассоциированный с интересующим признаком, может использоваться в качестве косвенного критерия отбора. Томат относится к числу первых сельскохозяйственных культур, для которых было предложено использование молекулярных маркеров в качестве косвенного инструмента для направленного и ускоренного проведения селекционного процесса (Tanksley, 1983). Практическое применение маркер-ассистированной селекции (Marker-Assisted Selection, MAS) у томата началось около четырёх десятилетий назад. Первые исследования основывались, в частности, на использовании биохимического изозимного маркера — кислой фосфатазы (локус *Aps-11) — в качестве косвенного критерия отбора генотипов, характеризующихся устойчивостью к нематодам (Medina-Filho and Stevens, 1980).

Совсем недавно с разработкой новых молекулярных маркеров и генетических карт томата MAS стал обычной практикой многих этапов селекционных программ томата: оценка чистосортности гибридных семян путем скрининга посевных партий с помощью панели молекулярных маркеров, скрининг генетических ресурсов на наличие генов устойчивости к болезням или качества плодов, маркер-опосредованное беккроссирование (МАВ) (Voorpathi, 2013). Для многих простых моногенных признаков в том числе устойчивости к болезням томата MAS не только быстрее, чем оценка в провокационных условиях, но также дешевле и эффективнее. У томата идентифицированы и картированы гены устойчивости к более чем 35 патогенам (Van Ooijen, 2007). Насколько известно, в настоящее время в

семеноводческой отрасли томата маркер-ассистированная селекция (Marker-Assisted Selection, MAS) широко применяется для отбора генотипов по ряду хозяйственно ценных признаков, связанных с устойчивостью к наиболее значимым заболеваниям. В частности, молекулярные маркеры используются для идентификации генов и аллелей, обуславливающих устойчивость к фузариозному увяданию (расы 1, 2 и 3), фитофторозу (гены *Ph-3* и, возможно, *Ph-2*), вертициллёзному увяданию (раса 1), бактериальной пятнистости листьев (гены *Rx3* и *Rx4*), вирусу пятнистого увядания томата (ген *Sw-5*), вирусу жёлтой курчавости листьев томата (гены *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3* и *Ty-4*), а также к галловым нематодам (ген *Mi*).

1-2 Применение молекулярных маркеров в селекции томата на устойчивость к грибным заболеваниям

1-2-1 Устойчивость томата к альтернариозу

Альтернариоз, вызываемый фитопатогенными грибами *Alternaria tomatophila* и *A. solani*, относится к числу наиболее распространённых и экономически значимых заболеваний томата. Наиболее благоприятные условия для развития и распространения возбудителей складываются в регионах с обильным выпадением росы, частыми осадками и высокой относительной влажностью воздуха. В связи с этим альтернариоз представляет существенную угрозу продуктивности и качеству урожая томата.

Источники генетической устойчивости к альтернариозу были выявлены среди диких родственных видов томата, в частности *Solanum habrochaites*, *S. pimpinellifolium* и *S. peruvianum* (Foolad et al., 2008). Выявление и использование данных генетических ресурсов представляет значительный интерес для селекции устойчивых сортов и гибридов томата.

Устойчивость томата к альтернариозу не соответствует модели вертикальной/качественной устойчивости ген на ген. Напротив, он был охарактеризован как сложный количественный признак, контролируемый

аддитивными или неаддитивными эффектами взаимодействия нескольких генов и находящийся под сильным влиянием стадий развития растений и условий окружающей среды (Nash and Gardner, 1988; Gardner, 1999; Foolad et al., 2000; Foolad et al., 2005). Устойчивость томата к альтернариозу характеризуется низкой или умеренной степенью наследуемости (Gardner, 1988; Gardner, 1990; Foolad and Lin, 2001; Foolad et al., 2002). Несмотря на выявление генетической обусловленности данного признака, в большинстве селекционных программ его оценка и отбор устойчивых генотипов по-прежнему осуществляются преимущественно на основе фенотипического отбора. В то же время в различных межвидовых популяциях томата были идентифицированы количественные локусы признаков (QTL), ассоциированные с устойчивостью к альтернариозу. Выявление таких локусов создаёт предпосылки для разработки и применения молекулярных маркеров в селекции томата на устойчивость к данному заболеванию.

Альтернариоз, вызываемый несовершенными грибами *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* поражает листья, стебли и плоды и может значительно снизить конечный урожай и качество плодов. Лocus устойчивости, *Asc*, был идентифицирован и картирован на длинном плече хромосомы 3 томата (Witsenboer et al., 1989). Несмотря на то что RFLP-маркеры TG134 и TG442 локализованы на генетическом расстоянии меньше 0,7 и 1,4 cM соответственно от локуса *Asc* (van der Biezen et al., 1994; van der Biezen et al., 1995), ген устойчивости был картирован (Mesbah et al., 1999), однако, насколько известно авторам, ни о каком маркере, основанном на ПЦР, не сообщалось и не использовался для селекции этой устойчивости.

1-2-3 Устойчивость томата к черной плесени

Черная плесень, вызываемая сапрофитной формой *Alternaria alternata*, поражает спелые помидоры на переработку и для свежего потребления, может нанести большой экономический ущерб. Первоначально источник генетической устойчивости томата к чёрной плесени был выявлен у дикого вида *Solanum cheesmanii*, представленного образцом LA 422 (Cassol and St.

Clair, 1994). Впоследствии межвидовые популяции, полученные в результате скрещивания этого образца с линией томата, использовали для картирования QTL, что привело к идентификации нескольких QTL на хромосомах 2, 3, 9 и 12 (Robert *et al.*, 2001). Более того, метод обратного скрещивания с использованием маркеров RFLP и ПЦР-маркеров привел к созданию 231 близко-изогенных линий (NIL), содержащих QTL устойчивости на каждой из хромосом томата 2, 3, 9 и 12. QTL на хромосоме 2 оказывали положительное влияние на устойчивость к черной плесени и не имели очевидных неблагоприятных плеiotропных эффектов, другие QTL были связаны с различными нежелательными агрономическими признаками, несмотря на их положительное влияние на устойчивость к черной плесени (Robert *et al.*, 2001). В настоящее время нет сообщений об использовании родственных генетических маркеров для MAS-селекции на устойчивость к черной плесени у томата.

1-2-2 Устойчивость к пробковой гнили корней томата

Пробковая гниль корней томата, вызываемая почвенным фитопатогеном *Pyrenochaeta lycopersici*, представляет собой распространённое заболевание, поражающее корневую систему растений томата, преимущественно выращиваемых в тепличных условиях или в открытом грунте при пониженной температуре почвы. Заболевание характеризуется постепенным разрушением и деградацией корневой системы, что приводит к снижению интенсивности роста растений и, как следствие, их продуктивности.

Источники генетической устойчивости к пробковой гнили корней были выявлены у диких родственных видов томата *Solanum habrochaites* и *S. peruvianum* (Hogenboom, 1970). В дальнейшем у образца *S. peruvianum* был идентифицирован рецессивный ген устойчивости *py-1* (Laterrot, 1993). Последующее генетическое картирование показало локализацию данного гена на коротком плече хромосомы 3 томата. Ген *py-1* был картирован в интервале размером 8,8 сМ между RFLP-маркерами TG40 и CT31 (Doganlar *et al.*, 1998). Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования

сцепленных молекулярных маркеров для идентификации генотипов, несущих аллель устойчивости *ru-1*, и их последующего отбора в селекционных программах.

В том же исследовании маркеры RFLP были преобразованы в маркеры CAPS и были идентифицированы дополнительные маркеры RAPD, связанные с *ru-1* (табл. 1). Сообщений об использовании этих маркеров для селекции на устойчивость к пробковой корневой гнили у томата нет. Кроме того, отсутствуют известные коммерческие сорта томата с надежной устойчивостью к пробковой корневой гнили (Ekengren et al., 2008).

1-2-4 Устойчивость томата к антракнозу

Антракноз, вызываемый тремя видами *Colletotrichum coccodes*, *C. dematium* и *C. gloeosporioides*, является распространенным грибковым заболеванием томата, поражающим спелые или перезревшие плоды в районах с высокой влажностью. Хотя он встречается в основном при переработке томата, он также поражает сорта томата, продаваемых в свежем виде. Было проведено несколько исследований генетического картирования этой болезни томата. В одном исследовании дочерние популяции и популяции обратного скрещивания, полученные в результате внутривидового скрещивания родословных устойчивых и восприимчивых томата, использовались для характеристики генетической основы устойчивости, в результате чего было идентифицировано несколько маркеров RAPD, связанных с QTL, придающими устойчивость к антракнозу (Stommel and Zhang, 1998). Однако полезность этих RAPD-маркеров не была подтверждена, и нет сообщений об их использовании для селекции устойчивости у томата.

1-2-5 Устойчивость томата к фузариозной гнили корневой шейки и корней.

Фузариозная гниль корневой шейки и корней (FCRR), вызываемая *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* — серьезное почвенное заболевание томата во многих регионах выращивания по всему миру (Scott and Jones, 2000; Scott, 2008). Это особенно распространено в районах с прохладной температурой. Источник устойчивости был выявлен у индуцированного

мутанта *Solanum peruvianum*. В результате генетических исследований был идентифицирован и картирован на хромосоме 9 томата ген устойчивости *Frl*, локализованный в тесной связи с геном *Tm-22* (Vakalounakis et al., 1997). В последующих исследованиях были выявлены RAPD-маркеры, сцепленные с локусом *Frl*, что создало предпосылки для их использования в качестве инструментов молекулярно-маркерного отбора устойчивых генотипов в селекционных программах (Fazio et al., 1999).

Совсем недавно сообщалось о маркере RAPD (UBC 194), связанном с *Frl* (табл. 1), который, следовательно, может быть полезен для селекции с использованием MAS (Tanyolac and Akkale, 2010). Однако нет сообщений об использовании любого из этих маркеров в селекции томата на устойчивость к FCRR. Более того, существует всего несколько линий или коммерческих сортов томата, устойчивых к FCRR (Scott and Jones, 2000; Scott, 2008).

1-2-6. Устойчивость томата к фузариозному увяданию

Фузариозное увядание томата, вызываемое специализированной формой гриба *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), является одним из наиболее широко распространённых и экономически значимых заболеваний томата во всём мире (Agrios, 2004). До сих пор сообщалось о трех расах патогена (1, 2 и 3) и о четырех локусах устойчивости (I, I-1, I-2 и I-3), придающих вертикальную устойчивость к заболеванию. Первый ген I, придающий устойчивость к расе 1 патогена, был идентифицирован в образце *S. pimpinellifolium* PI 126915 (Bohn and Tucker, 1940) и впоследствии картирован на коротком плече хромосомы 11 томата рядом с маркером RFLP TG523 (Sela-Buurlage et al., 2001; Scott et al., 2004). Маркеры на основе ПЦР тесно связанные с этим геном в настоящее время доступны (табл. 1). Ген I-2 придает устойчивость к расе 2. Он был идентифицирован в образце *S. pimpinellifolium* PI 126915 и расположен на длинном плече хромосомы 11 рядом с RFLP-маркером TG105 (Sarfattì et al., 1989). Впоследствии I-2 был точно картирован между маркерами RFLP TG105 (расстояние 0,4 сМ) и TG36 (Ori et al., 1997). В настоящее время установлено, что доминантный ген

устойчивости *I-2* обеспечивает устойчивость томата к первой и второй расам возбудителя *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Данный локус локализован на длинном плече хромосомы 11 и представлен, по меньшей мере, семью гомологичными генами, относящимися к классу генов устойчивости NBS-LRR (nucleotide-binding site–leucine-rich repeat). Для локуса *I-2* были разработаны и описаны несколько ПЦР-маркеров, тесно сцепленных с геном устойчивости, что позволяет рассматривать их в качестве перспективных инструментов для маркер-ассистированной селекции устойчивых генотипов томата (El Mohtar et al., 2007; Yu and Zou, 2008). Пара праймеров U78–UP78 амплифицирует один из гомологов гена *I2-12C-1*, выявленного в устойчивых генотипах томата и ассоциированного с частичной устойчивостью к фузариозному увяданию. Несмотря на наличие чёткого полиморфизма между устойчивыми и восприимчивыми генотипами, использование данной пары праймеров не позволило разработать кодоминантный маркер, обеспечивающий достоверное различие гомозиготных и гетерозиготных растений.

Пара праймеров U78–UN78 амплифицирует один из гомологов гена *I2-12C-1*, выявленного в устойчивых генотипах и связанного с частичной устойчивостью к фузариозному увяданию. Впоследствии комбинация праймеров U127–UN127 позволила идентифицировать соответствующий маркер как кодоминантный. Полученный кодоминантный маркер может быть использован для дифференциации гомозиготных и гетерозиготных генотипов и представляет интерес для применения в маркер-ассистированной селекции томата на устойчивость к фузариозу.

Ген *I-3*, придающий устойчивость к расе 3, был картирован на хромосоме 7 томата рядом с маркером изофермента Got-2 с использованием популяций от скрещиваний культивируемых томата и образцов *S. pennellii* LA 716 и PI 414773 (Hemming et al., 2004). В этом исследовании ген *I-3* был расположен в интервале 0,3 сМ, содержащем маркер амплификации ДНК с радиоактивной меткой (RAF) и маркер аналога гена устойчивости (RGA)

(RGA332). Последующее исследование привело к построению карты региона I-3 с высоким разрешением и идентификации нескольких близкородственных маркеров на основе ПЦР (Lim *et al.*, 2006). В этом исследовании было обнаружено, что ген I-3 в образце *S. pennellii* LA 716 отличался от гена I-3 в образце *S. pennellii* PI 1414773, который был обозначен как I-7 (Lim *et al.*, 2006). В другом исследовании I-3 был картирован с интервалом 0,38 сМ, фланкирован двумя маркерами на основе ПЦР, полученными из последовательности ВАС.

1-2-7 Устойчивость томата к вертициллезному увяданию

Вертициллёзное увядание томата, вызываемое почвенными фитопатогенными грибами *Verticillium dahliae* и *V. albo-atrum*, является одним из наиболее распространённых и экономически значимых заболеваний томата в различных регионах его выращивания. Возбудители характеризуются широким спектром растений-хозяев и способны поражать более 200 видов двудольных растений, включая многие сельскохозяйственно значимые культуры. Инфицирование приводит к поражению сосудистой системы растений, нарушению транспорта воды и минеральных веществ и, как следствие, снижению роста, продуктивности и качества урожая. Сообщалось о двух расах возбудителя (раса 1 и раса 2). Доминантный ген устойчивости *Ve*, обеспечивающий устойчивость томата к расе 1 возбудителя вертициллёзного увядания, был картирован на коротком плече хромосомы 1 (Diwan *et al.*, 1999). Первоначально локализация данного гена вызывала определённые трудности, что было связано с предположением о наличии множественных аллелей, обуславливающих устойчивость.

Впоследствии было установлено, что соответствующий локус представлен двумя тесно сцепленными и противоположно ориентированными генами — *Ve1* и *Ve2* (Kawchuk *et al.*, 2001). При этом показано, что именно ген *Ve1* обеспечивает устойчивость томата к штаммам расы 1 *Verticillium dahliae* и *V. albo-atrum* (Fradin *et al.*, 2009).

Большинство современных сортов томата характеризуются наличием гена устойчивости *Ve*, обеспечивающего устойчивость к расе 1 возбудителей вертициллёзного увядания. В связи с высокой селекционной значимостью данного гена был разработан и описан ряд ПЦР-маркеров, сцепленных с локусом *Ve* и позволяющих идентифицировать соответствующий аллель в селекционном материале (Kawchuk et al., 1994; Kawchuk et al., 1998; Kawchuk et al., 2001; Acciarri et al., 2007; Park et al., 2008), основные из которых перечислены в Таблице 1. Раса 2 патогена, которая в совокупности включает все штаммы патогена, вирулентные к сортам, содержащим *Ve*, зарегистрирована во многих регионах выращивания томата по всему миру (Scott and Gardener, 2007). Устойчивость к этой расе не следует механизму устойчивости ген на ген. Вместе с тем среди образцов *Solanum lycopersicum* были выявлены источники частичной устойчивости к расе 2 возбудителя вертициллёзного увядания (Baergen et al., 1993; Stamova, 2005; de Miranda et al., 2010). Кроме того, сообщалось о маркерах SCAR и SNP, связанных с этой устойчивостью (Kawchuk et al., 1998; Kawchuk et al., 2001), которые перечислены в таблице 1.

Таблица 1 - Молекулярные маркеры, связанные с генами устойчивости томата к грибковым заболеваниям, включая пробковую корневую гниль, фузариозную корневую гниль, фузариозное увядание и вертициллезное увядание

Заболевание	Ген	Маркер	Тип маркера	Идентификатор маркера	Праймер прямой 5'-3'	Праймер обратный 5'-3'	Ссылка
Фузариозное увядание	I-2	CAPS	Доминантный	LR1/ LR2	ACT CTA CAA ATC TGG A AT TTC CTT	AAA TTC TAG TAG TGG TGT GA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	V127/ VU127	TGG AAC AAT GTC GGC ACT TAT CTT	CAA CCA CAT TTT CCA ACT TCA CAA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	Cl/C2	CCT CCT TTT CTC ACC TCA CTT CGC	ATT TGT GGC CAG TAT TCC CC	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	FG1/ LF127	ATG GAG ATT GGC TTA GCA GTT GGT	TCG TTG TAA TTT TCA TTC C AC ACA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	F7/ FU7	CAG TTG TGA AGT TGG AAA ATG TGG	CAA TTT CAA TTT TGG GCA ACG AGA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	LF79/LF78	CAT TTC TCA ATT CAT CCC ACT CGT	TCA TTC CAC ACG TCA TCA AGG ACA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	L79/LU7 9	ATT TAG GCA ACC AAT TCT TTC TCG	TGG GCG TAG CTC ATC A AG TAT GTA	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Доминантный	M78/ MU78	TCT TGT TGT CCT TGA TGA CGT GTG	CTA TTG AAT AGG ACA TGT GCC GAC	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Кодоминантный	U127/ UN127	GTT GAG GAC ATT GCT TCC GAT ACG	AAC AAC TGG ACA ATC ACT AAC TTC	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Кодоминантный	U78/UN78	ACT CGA TAA AGT ATT GGT TAC CCG	GCT ACA AGT CAA ATT GAA GGC	Куклев М.Ю., 2007
	I-2	CAPS	Кодоминантный	U78/UP78	ACT CGA TAA AGT ATT GGT TAC CCG	TGT ATT GAT TAT ATG GTA GGC CCC	Куклев М.Ю., 2007
	I	SCAR	Доминантный	At2	CGAATCTGTATATT ACATCCGTCGT	GGTGAATACCGATC ATAGTCGAG	Arens et al., 2010
	I-2	SCAR	Доминантный	Z1063	ATTTGAAAGCGTGG TATTGC	CTTAAACTCACCATT AAATC	Arens et al., 2010

	I-2	InDel	Доминантный	TFus	CTG AAAC TC TCC GTA TTT C	CGA AGA GTG ATTGGAGAT	El Mohtar et al., 2007
	I-2	InDel	Доминантный	Tfus	CTG AAAC TC TCC GTATTT C	CCT GGATGA ACA GCTGAG	El Mohtar <i>et al.</i> , 2007
	I-3	CAPS	Кодоминантный	P7–43B NsiI	CAGTCATTATTAAC AAATTTTCAGGATCG	TCTGAGCAATACGTC TAGCAGC	Barillas et al., 2008
	I-3	CAPS	Кодоминантный	PTG-190 AluI	GCAGTACACTTCTC CTTATCATGTG	AGTTTCAGTAGTTGT TCCAAATTCC	Barillas et al., 2008
	I-3	SCAR	Кодоминантный	P7– 43DF1/R1	GGTAAAGAGATGCG ATGATTATGTGGAG	GTCTTTACCACAGGA ACTTTATCACC	Barillas et al., 2008
	I-3	SCAR	Кодоминантный	P7– 43DF3/R1	CACGGGATATGTTR TTGATAAGCATGT	GTCTTTACCACAGGA ACTTTATCACC	Barillas et al., 2008
	I-3	SCAR	Кодоминантный	Me-Em-A	TGA GTC CAA ACC GGACTA CAA G	GAC TGC GTA CGA ATTAAC TCT ACG	Mutlu et al., 2008
	I-3	SCAR	Кодоминантный	Me-Em-B	TGA GTC CAA ACC GGACTA CAA G	AGT TGA AAG GAAAGT AGG TG	Mutlu et al., 2008
	I-3	SCAR	Кодоминантный	Me8-Em5	TGA GTC CAA ACCGGA CT	GAC TGC GTA CGAATT AAC	Mutlu et al., 2008
Пробковая корневая гниль	py-1	CAPS	Кодоминантный	TG40 DraI	CGTTTAGGCAATTC ACATCTAG	AACAACAACGTGAC CTCAGTCC	Doganlar et al., 1998
	py-1	CAPS	Кодоминантный	TG324 DraI	CTTCTAGTAGTCCA ACAGCAACTG	CAC TTGGTTGATGGA TAGTG	Doganlar et al., 1998
	py-1	CAPS	Кодоминантный	TG479	GGTGATTATGGGTG ATCCTATG	CCAAGTGAGTACCA ACAGTTCC	Doganlar et al., 1998
	py-1	RAPD	Доминантный	OPW-04	CAGAAGCGGA		Doganlar et al., 1998
	py-1	RAPD	Доминантный	OPC-02	GTGAGGCGTC		Doganlar et al., 1998
	py-1	RAPD	Доминантный	OPG-19	–GTCAGGGCAA		Doganlar et al., 1998
	Frl	RAPD	Кодоминантный	UBC 655	GCA TTT CCC G		Fazio et al., 1999

Фузариозная корневая гниль							
	Frl	RAPD	Доминантный	UBC 116	– TAC GAT GAC G		Fazio et al., 1999
	Frl	RAPD	Доминантный	UBC 194	AGG ACG TGC C		Tanyolac, Akkale, 2010
Вертициллез ное увядание	Ve-1	SCAR	Кодоминантный	V1LeO1new	TACGGAGTTATTCG CTAAAGC	AGAGATCAAGAGTA ACTAGCC	Acciarri et al., 2007
	Ve-1	SCAR	Кодоминантный	V1LeO2new	GTTACATGCAATCT CTTTGG	AGAGTAGTCCACAT AGATGG)	Acciarri et al., 2007
	Ve-1	SCAR	Кодоминантный	V1LeO3	CATCTATGTGGACT ACTCTAG	GGACTTCCAACAAC TACTGAC	Acciarri et al., 2007
	Ve-1	SNP	Кодоминантный	Ve1 2072	CCTTGATGGGGTTG ATCTTTCGT	GTAGGTGAGTTTCTT GGACAGTCGA	Arens et al., 2010
	Ve-1	SNP	Кодоминантный	Ve1 SNP2199	CAGGCCCTTTGGAT GAATCACATT	GTTGGACAAAAGAG AGAAAGTGAAGCTA AGT	Arens et al., 2010
	Ve-1	SNP	Кодоминантный	Ve1SNP21 991tc	CAGGCCCTTTGGAT GAATCACTAT	GGTGCTGGTTTCAAC TCTGAAGT	Arens et al., 2010
	Ve-2	SNP	Кодоминантный	Ve2 2720	GGATCTTAGCTCAC TTTATGTTTTGAAC	GGTGCTGGTTTCAAC TCTGAAGT	Arens et al., 2010
	Ve-2	SNP	Кодоминантный	Ve2 SNP2827	CAAATGCTTGAATC ACTAGACCTGTGAA C	GGATCTCCCCGGACA GGTGGATTC	Arens et al., 2010
	Ve-2	SCAR	Кодоминантный	V2LeO1	TGGATCTTCTTCATC ATACC	TGAGAGAGTCCTTCA AAATGAG	Acciarri et al., 2007
	Ve-2	SCAR	Кодоминантный	V2LeO2	CTTTCACGTAATGG TCTAAC	GAATTCTTCCAGCTA TGTTTG	Acciarri et al., 2007
	Ve-2	SCAR	Кодоминантный	V2LeO3	CAAACATAGCTGGA AGAATC	TAGGAGGAAAAGAA TTGG	Acciarri et al., 2007
	Ve		Кодоминантный	VF/VR	5 AGC TTA TTC ATT CCA CCC A	CTG AAT AGC AAG ACA ACG TGG C 3'	Куклев М.Ю., 2007

	Ve1		Кодоминантный	VVF1 /VVR1	TTG GCA AAA TGG AAC GAC ATG ACA	GAG CCC AGG GTC AAT GTA GTC AAG	Куклев М.Ю., 2007
	Ve 2		Кодоминантный	VVF2 VVR2	GAC TAC ATT GAC CCT GGG CTC TTG 3'	TGA GAG CAC CTT AAG CCT TTC AAT 3	Куклев М.Ю., 2007

1-2-8 Устойчивость томата к фитофторозу

Фитофтороз томата, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans*, является одним из наиболее опасных заболеваний культуры, особенно в регионах с высокой относительной влажностью и пониженными температурами. При благоприятных для развития патогена условиях заболевание способно приводить к значительным потерям урожая, которые на незащищённых посевах и в тепличных условиях могут достигать 100 %. Помимо непосредственного снижения урожайности, фитофтороз отрицательно влияет на качество плодов, в том числе на их удельную массу и лёжкость, а также приводит к увеличению затрат на проведение защитных мероприятий и применение фунгицидов.

Генетическая устойчивость томата к *P. infestans* на протяжении многих лет является объектом интенсивных исследований благодаря её высокой экономической значимости. Особый интерес к данному заболеванию обусловлен также его историческим значением: эпидемия фитофтороза картофеля, вызванная *P. infestans*, сыграла существенную роль в развитии Великого ирландского голода в 1840-х годах.

В генетических исследованиях томата были идентифицированы несколько генов устойчивости к фитофторозу, в частности *Ph-1*, *Ph-2* и *Ph-3*, локализованные соответственно на 7-й, 10-й и 9-й хромосомах томата. Ген *Ph-1* представляет собой доминантный ген устойчивости, обеспечивающий защиту от расы T-0 возбудителя. Однако устойчивость, обусловленная данным геном, может быть относительно быстро преодолена при появлении новых рас патогена, что ограничивает эффективность его длительного использования в селекционных программах (Peirce, 1971).

Ген *Ph-2*, локализованный в дистальной области длинного плеча хромосомы 10 томата, относится к частично доминантным генам устойчивости к фитофторозу (Moreau et al., 1998). Его наличие обеспечивает частичную устойчивость растений к нескольким изолятам расы T-1 *Phytophthora infestans* (Gallegly, 1960; Peirce, 1971). При этом устойчивость,

обусловленная *Ph-2*, не препятствует развитию инфекции полностью, а преимущественно снижает скорость распространения заболевания в тканях растения (Moreau et al., 1998). Эффективность данного гена также зависит от вирулентности изолята: против более агрессивных изолятов *Ph. infestans* устойчивость, обусловленная *Ph-2*, может быть недостаточной (Goodwin et al., 1995; Black et al., 1996). *Ph-2* был картирован с интервалом 8,4 сМ на длинном плече хромосомы 10 между маркерами RFLP CP105 и TG233 (Moreau et al., 1998). Недавно в Корнельском университете были разработаны новые маркеры на основе ПЦР, связанные с *Ph-2* которые перечислены в таблице 2.

Ген *Ph-3*, характеризующийся более высоким уровнем устойчивости к фитофторозу, был первоначально выявлен у дикого вида *Solanum pimpinellifolium*. По сравнению с генами *Ph-1* и *Ph-2*, *Ph-3* обеспечивает более широкий спектр устойчивости и проявляет неполное доминирование. Устойчивость, обусловленная данным геном, сохраняется в отношении широкого спектра изолятов *Phytophthora infestans*, включая изоляты, способные преодолевать устойчивость, обеспечиваемую генами *Ph-1* и *Ph-2* (Chunwongse et al., 2002). *Ph-3* был картирован на длинном плече хромосомы 9 рядом с маркером RFLP TG591a (Chunwongse et al., 2002).

Недавно были разработаны кодоминантные маркеры CAPS для использования в селекции с помощью маркеров для *Ph-3* (Robbins et al., 2010), которые перечислены в таблице 2. Было высказано предположение, что высокая степень устойчивости, наблюдаемая у линии L3708 — исходного источника гена *Ph-3*, — обусловлена не только действием локуса *Ph-3*, но и наличием дополнительных генетических факторов. Показано, что один лишь *Ph-3*, как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии, не обеспечивает достаточного уровня устойчивости к некоторым высокоагрессивным изолятам *Phytophthora infestans*, в частности US-7 и US-17 (Kim and Mutschler, 2005; Lee et al., 2006). Это позволяет предположить наличие в генотипе L3708 дополнительных, на тот момент не

идентифицированных генов или локусов, которые совместно с *Ph-3* обеспечивают более высокий уровень устойчивости.

Кроме того, были выявлены изоляты *P. infestans*, способные преодолевать устойчивость, обусловленную *Ph-3* (Chunwongse et al., 2002). В связи с этим особый интерес представляет комбинирование генов устойчивости: сочетание *Ph-3* и *Ph-2*, по имеющимся данным, обеспечивает более высокий уровень устойчивости к широкому спектру изолятов патогена и рассматривается как перспективный подход в селекции томата на устойчивость к фитофторозу.

1-2-9. Устойчивость томата к кладоспориозу

Кладоспориоз томата является широко распространённым заболеванием, встречающимся практически во всех регионах выращивания культуры и особенно часто поражающим растения, выращиваемые в тепличных условиях. К основным симптомам заболевания относятся пожелтение листьев, а также поражение цветков и молодых плодов, которые по мере развития инфекции постепенно увядают и засыхают.

Генетическая устойчивость томата к возбудителю кладоспориоза характеризуется значительным разнообразием. На сегодняшний день идентифицировано и картировано на различных хромосомах более 20 генов, обуславливающих устойчивость к отдельным расам патогена (Wang et al., 2007). В селекции томата в качестве наиболее значимых генов устойчивости рассматриваются *Cf-2*, *Cf-5*, *Cf-6* и *Cf-9*, обеспечивающие устойчивость к различным расам возбудителя, включая 1, 3 и 4.

Особое значение в современной селекции на устойчивость к кладоспориозу имеет ген *Cf-5*, локализованный на коротком плече хромосомы 6 томата. Данный ген входит в состав генетического кластера генов устойчивости, включающего также локус *Cf-2* (Wang et al., 2007). Благодаря высокой селекционной значимости *Cf-5* представляет интерес как генетический ресурс для создания устойчивых сортов и гибридов томата.

Установлено, что некоторые расы этого патогена способны преодолевать резистентность, определяемую большинством известных генов томата, в том числе *Cf-5*. Поэтому необходимо объединить как минимум два гена, чтобы обеспечить их эффективность против патогенных угроз (Игнатова, 2001). На основании анализа нуклеотидной последовательности гена *Cf-2* было установлено, что праймер 2-2R в сочетании с праймером 2-5C, разработанным Dixon et al. (1996), позволяет выявлять локусы *Cf-2*, *Cf-5* и *Cf-6*. Использование комбинации праймеров 2-5CF/2-2CR обеспечивает получение специфического набора амплифицированных фрагментов, различающихся по размеру. В частности, для локуса *Cf-2* выявляется фрагмент размером около 1600 п.н., для *Cf-5* — около 750 п.н., тогда как наличие фрагмента размером около 550 п.н. характерно для локуса *Cf-6*. Таким образом, полученный профиль амплификации позволяет дифференцировать генотипы томата по наличию соответствующих локусов устойчивости к кладоспориозу.

Разработано несколько молекулярных маркеров генов устойчивости к различным вариантам этого возбудителя, часть из которых представлена в (табл. 2).

1-2-10. Устойчивость томата к настоящей мучнистой росе

Настоящая мучнистая роса томата представляет собой грибное заболевание, вызываемое различными видами фитопатогенных грибов, среди которых *Leveillula taurica*, *Oidium lycopersici* и *O. neolycopersici* sp. nov. (Chunwongse et al., 1994; Kissa et al., 2001) и обычно встречается на томатах, выращиваемых в теплицах или высоких туннелях, но иногда также встречается на томатах, выращиваемых на приусадебных участках или коммерческих полях.

Заболевание характеризуется образованием характерного белого мучнистого налёта на листьях, стеблях, цветоножках и чашелистиках растений томата. На лепестках, плодах и корневой системе признаки поражения, как правило, не наблюдаются. На начальных этапах развития заболевания на

листьях формируются отдельные округлые участки белого мучнистого налёта, состоящего преимущественно из конидий гриба. По мере прогрессирования инфекции поражённые участки увеличиваются и могут охватывать значительную часть листовой поверхности. В результате нарушается нормальное функционирование фотосинтетического аппарата, что сопровождается развитием хлороза и последующим некрозом тканей листа. Поражение стеблей и черешков преимущественно наблюдается у восприимчивых сортов при высокой степени развития заболевания (Ахатов А. К. и др., 2013).

Генетические источники устойчивости к возбудителям мучнистой росы были выявлены среди различных диких видов рода *Solanum* (van der Beek et al., 1994; Mieslerova et al., 2000; Matsuda et al., 2005). На сегодняшний день идентифицировано и картировано девять генов и количественных локусов признаков (QTL), ассоциированных с устойчивостью томата к данным патогенам. Выявление этих генетических ресурсов имеет важное значение для разработки эффективных методов селекции устойчивых сортов и гибридов томата.

Гены с неполным доминированием *Ol-1* и *Ol-3* были обнаружены в двух образцах *S. habrochaites*, и оба были картированы в идентичном месте на хромосоме 6 томата, что позволяет предположить, что эти гены могут быть аллельными (Huang et al., 2000). Ген *Ol-1*, идентифицированный у *Solanum habrochaites* G1.1560 (Emelina et al., 2010), был картирован на длинном плече хромосомы 6 томата (Kokaeva et al., 2016). Второй ген устойчивости, *ol-2*, представляет собой рецессивный ген, выявленный у *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* LA1230 и локализованный на хромосоме 4 (Poliksenova et al., 2008). Последующее клонирование данного гена показало его гомологию с геном *MLO* ячменя, участвующим в формировании устойчивости к мучнистой росе.

Гены *Ol-4* и *Ol-6* представляют собой аллельные варианты и локализованы в одном и том же генетическом регионе. Оба гена относятся к

кластеру генов устойчивости R и, предположительно, могут происходить от гомолога гена устойчивости к нематодам *Mi-1.2*, который также связан с устойчивостью томата к тлям. Ген *Ol-4* был интрогрессирован из *S. peruvianum* LA2172 и локализован на коротком плече хромосомы 6 (Ciccarese et al., 1998).

Ген *Ol-5* был интрогрессирован из *S. habrochaites* PI247087 и тесно сцеплен с генами *Ol-1* и *Ol-3*, расположенными на длинном плече хромосомы 6 (Kokaeva et al., 2016). Ген *Ol-6*, выявленный в перспективной селекционной линии неизвестного происхождения, был картирован в том же хромосомном регионе, что и *Ol-4* (Kokaeva et al., 2016).

Стабильность генов Ол проявляется HR, реакцией гиперчувствительности, которая может протекать по двум сценариям. Одним из механизмов устойчивости томата к мучнистой росе является многоклеточная гиперчувствительная реакция (HR), которая наблюдается у генотипов, несущих гены *Ol-1*, *Ol-3* и *Ol-5* (Kokaeva et al., 2016). Примечательно, что данные гены происходят из различных линий *S. habrochaites*, однако локализованы в одном и том же генетическом регионе на длинном плече хромосомы 6 (Huang et al., 2000). При данном типе устойчивости гиперчувствительная реакция развивается примерно в 30 % инфицированных клеток, что обуславливает формирование неполной устойчивости к патогену.

Другой, принципиально отличный механизм устойчивости связан с рецессивным геном *ol-2*. В данном случае защитная реакция растения основана на формировании папилл — специализированных утолщений клеточной стенки в местах контакта с патогеном, возникающих вследствие накопления и отложения каллозы (Poliksenova et al., 2008; Huang et al., 2000). Папиллы формируются вскоре после образования первичного гаустория и препятствуют его дальнейшему развитию, тем самым ограничивая проникновение патогена в клетки растения и обеспечивая высокую степень устойчивости к грибному возбудителю.

Помимо моногенных факторов устойчивости, у томата были идентифицированы три локуса количественных признаков (Ol-QTL), ассоциированные с устойчивостью к мучнистой росе. Данные локусы были выявлены у *S. neorickii* G1.1601 (Bai et al., 2005). Локус *Ol-QTL1* картирован на хромосоме 6 в регионе, содержащем гены *Ol-1*, *Ol-3* и *Ol-5*. Локусы *Ol-QTL2* и *Ol-QTL3* локализованы на хромосоме 12 вблизи гена *Lv* (Bai et al., 2005; Ciccicarese et al., 1998). Наличие как качественных генов, так и количественных локусов устойчивости свидетельствует о сложной генетической природе устойчивости томата к мучнистой росе.

Кроме того, было идентифицировано несколько QTL устойчивости томата к мучнистой росе, некоторые из которых картированы в тех же хромосомных местоположениях, что и гены *Lv* и *Ol-1* (Bai et al., 2003; Azizinia et al., 2009). Не сообщалось о маркерах на основе ПЦР, тесно связанных с этими QTL, для использования в селекции с помощью маркеров на устойчивость томата к мучнистой росе (Табл. 2).

Таблица 2- Молекулярные маркеры, связанные с генами устойчивости томата к грибковым заболеваниям:
фитофторозу, кладоспориозу и мучнистой росе

Заболевание	Ген	Маркер	Тип маркера	Идентификатор маркера	Праймер прямой 5'-3'	Праймер обратный 5'-3'	Ссылка
Фитофтороз	Ph-2	CAPS	Кодоминантный	dTG63	CTACTCTTTCTATGCAA TTTGAATTG	AATAATTTTCAACCATA GAATGATT	
	Ph-2	CAPS	Кодоминантный	dTG422	TGACATGAGAAGGAAA AGACTTAAG	GTCAATAATTTTCAACC ATAGAATGATT	
	Ph-3	CAPS	Кодоминантный	TG328	GGTGATCTGCTTATAGA CTTGGG	AAGGTCTAAAGAAGGC TGGTGC)	Robbins et al., 2010
	Ph-3	CAPS	Кодоминантный	TG591	AAGGCAAAGGAAGTTG GAGGTCA	AGAGGTTGCAACTCGT GGATTGAG	Robbins et al., 2010
	Ph-3	CAPS	Кодоминантный	dTG328	GAATCTTCCCCTCGACC CCTCCTCACG	GGCTTGCATCTTTCTCC CCTTAAATACCAGC	
	Ph-3	CAPS	Кодоминантный	dTG328	CCAGCTAACCAAATA AACTATATGTAT	GGCTTGCATCTTTCTCC CCTTAAATACCAAA	
	Ph-3	CAPS	Кодоминантный	TG591-New	AAGGCAAAGGAAGTTG GAGGTCA	TGGCTATGTTAAGCAA GATTTCTC	
Кладоспориоз (Бурая пятнистость листьев томата)	Cf-2, Cf-5	SSR	Кодоминантный	2-5C	GCTATCTTTGGGTATCA AAATCTT	AGATGACATCGACAAA ATGTG	Grushetskaya et al., 2007
	Cf-5	SSR	Кодоминантный	CF5	GTAATATCAGTGACCTT CACA	ATTTTCCAAACTGAAA AG	Grushetskaya et al., 2007

	Cf-6	SCAR	Кодоминантный	S374	CCCGCTACACCTTAAAC TT	GCTTGGGAGATTGTGT GTAGC	Wang et al., 2007
	Cf-6	SSR	Кодоминантный	SSR48	Cy5ATCTCCTTGGCCTC CTGTTT	GTCATGGCCACATGAA TACG	Grushetskaya et al., 2007
Кладоспори оз (Бурая пятнистость листьев томата)	Cf-6	SSR	Кодоминантный	SSR128	Cy5GGTCCAGTTCAATC AACCGA	TGAAGTCGTCTCATGGT TCG	Grushetskaya et al., 2007
	Cf-6	SSR	Кодоминантный	EST253	GAAATGAAGCTCTGAC ATCAAA	GAAATGAAGCTCTGAC ATCAAA	Grushetskaya et al., 2007
	Cf-6	SSR	Кодоминантный	T10	CTGTTTACTTCAAGAAG GCTG	ACTTTAACTTTATTATT GCGACG	Wang et al., 2007
	Cf-6	SSR	Кодоминантный	T12	GAGCGAGCAGAAAGGT GAAT	GAGCCTGAAAACATAG AAGT	Wang et al., 2007
	Cf- multip le	CAPS	Кодоминантный	CT2	AAGCCTCTAATCAAGA AAATGG	TTCAGTGCAATAATAAT GAGGG	Yuan et al., 2002
	Cf- multip le	CAPS	Кодоминантный	Cf4f3r3	TTTCATGCTATATGTCT TTCTC	AATTGGTCCTTCAAGAT GGTTA	Yuan et al., 2002
	Cf- multip le	CAPS	Кодоминантный	ET32	AGAAGGATAAAGCTCA ACATCGG	AAGGAACATCTGTGGT TCGC	Yuan et al., 2002
	Cf-9	Gene- based	Кодоминантный	CF8/C10 R	TGGGAATTTACCCGAA AGAA	TTTCCGATGTAAAAGA AGGCATA	Truong et al., 2011
	Cf-9	Gene- based	Кодоминантный	CF8/C12 R	TGGGAATTTACCCGAA AGAA	CCCAATCATTTCAGTGCG TTA	Truong et al., 2011

	Cf-9	Gene-based	Кодоминантный	CF10/C10R	TGTGGTGGTGAAGATC AAGTGA	TTTCCGATGTAAAAGA AGGCATA)	Truong et al., 2011
Настоящая мучнистая роса томата	Ol-1	SCAR	Доминантный	SCAE16	TCCGTGCTGAATGAAG ATTCAAAC	TCCGTGCTGATAAAACT GTTAGAC	Huang et al., 2000
	Ol-1	SCAR	Доминантный	SCAF10	GGTTGGAGACGAATGG AAAGATGC	GGTTGGAGACAATAGA CTCGAGAT	Huang et al., 2000
	Ol-1	SCAR	Доминантный	SCAB01	GCTTCTAGATGCAGAA AGTTGGCG	CGCCCATTCCTCGCATAT ACAG	Huang et al., 2000
	Ol-1	SCAR	Доминантный	SCAG11	TGGGATCACAGATTAA CAAATGCG	ATGTGTGCGATGAGAA ACGTGG	Huang et al., 2000
	Ol-1	SCAR	Доминантный	SCAK16	CAAACAAAGCAGTGGA TTTTTTTCG	TAAAAGCCTTAGTGGG ACAGGGC	Huang et al., 2000
	Ol-2	SCAR	Кодоминантный	SCAU3	CTATGCCGACTCATCTA ATCTG	CTATGCCGACGCACTTT CAAG)	De Giovanni et al., 2004

1-3 Молекулярные маркеры, используемые в селекции вирусоустойчивых томата

1-3-1 Устойчивость томата к вирусу томатной мозаики

Вирус томатной мозаики (Tomato mosaic virus, ToMV) относится к числу наиболее стабильных фитопатогенных вирусов, способных наносить существенный ущерб производству томата. В зависимости от генотипа растения, штамма вируса и условий выращивания потери урожая при инфицировании могут достигать 50 % и более. ToMV отличается высокой устойчивостью во внешней среде и эффективно передаётся механическим путём (Sobir et al., 2000), что способствует его быстрому распространению в условиях интенсивного выращивания томата, особенно в защищённом грунте. Заболевание проявляется характерной мозаичной окраской листьев, стеблей и плодов, сопровождающейся деформацией поражённых органов, снижением их физиологической активности и, в тяжёлых случаях, увяданием растений.

Источники генетической устойчивости к ToMV были выявлены преимущественно среди диких родственных видов томата, в частности *Solanum peruvianum* (Lukyanenko et al., 1991; Scott, 2007). В результате исследований были идентифицированы три основных доминантных гена устойчивости — *Tm-1*, *Tm-2* и *Tm-2²* (*Tm-2a*) (Ohmori et al., 1996; Sobir et al., 2000; Scott, 2007). Данные гены широко использовались в селекционных программах и были интродуцированы в ряд сортов и гибридов томата, устойчивых к ToMV, особенно предназначенных для выращивания в условиях защищённого грунта.

Ген *Tm-1* обуславливает устойчивость за счёт подавления репликации вируса и ингибирования активности вирусной РНК-репликазы (Meshi et al., 1988). В свою очередь, гены *Tm-2* и *Tm-2a*, локализованные на хромосоме 9, препятствуют распространению вируса из клетки в клетку и могут индуцировать гиперчувствительную реакцию растения (Meshi et al., 1989). Для всех трёх генов устойчивости были разработаны различные ПЦР-маркеры, часть которых используется в маркер-ассистированной селекции томата.

Ген *Tm-1* был картирован в геноме томата, после чего для его идентификации были разработаны кодоминантные SCAR-маркеры, специфичные к данному локусу (Ohmori et al., 1996; Arens et al., 2010). Эти маркеры нашли применение в селекционных программах для выявления устойчивых генотипов.

Ген *Tm-2* первоначально был картирован на хромосоме 9 томата с использованием RFLP-маркеров (Tanksley et al., 1992). В последующих исследованиях были выявлены несколько RAPD-маркеров, а также кодоминантный SCAR-маркер, тесно сцепленный с данным геном (Dax et al., 1994; Dax et al., 1998; Sobir et al., 2000). Полученные маркеры позволяют проводить идентификацию носителей устойчивого аллеля на ранних этапах селекционного процесса.

Аллель *Tm-2a* характеризуется более широким спектром устойчивости к различным штаммам ToMV по сравнению с *Tm-2* (Scott, 2007). Он также был локализован на хромосоме 9, в области размером около 0,4 сМ, вблизи RFLP-маркеров TG101 и TG79 (Young et al., 1988; Dax et al., 1998). Хотя *Tm-2a* был выявлен не непосредственно в том же исходном генотипе, который использовался для идентификации *Tm-2*, а у других диких видов томата (Cirulli and Alexander, 1969), предполагается, что эти гены являются аллельными либо располагаются в непосредственной близости друг от друга (Scott, 2007).

В дальнейшем были разработаны CAPS-маркеры, специфичные к *Tm-2a*, которые позволяют дифференцировать аллели *Tm-2* и *Tm-2a* в популяциях томата (Lanfermeijer et al., 2005; Arens et al., 2010). Таким образом, использование молекулярных маркеров, сцепленных или непосредственно связанных с генами *Tm-1*, *Tm-2* и *Tm-2a*, обеспечивает возможность ранней идентификации устойчивых генотипов и представляет собой эффективный инструмент маркер-ассистированной селекции томата на устойчивость к ToMV.

1-3-2 Устойчивость томата к вирусу желтой курчавости листьев

Вирус желтой курчавости листьев томата (TYLCV), однокомпонентный геминивирус, передается белокрылкой, является серьезным заболеванием томата в тропических и субтропических регионах мира. Генетические источники устойчивости были выявлены у дикорастущих видов томата *S. pimpinellifolium*, *S. peruvianum*, *S. cheesmanii*, *S. habrochaites* и *S. chilense* и использовали для изучения генетического контроля устойчивости (Pilowsky and Cohen, 2000; de Castro *et al.*, 2007b) (Scott, 2007). Из-за очень разрушительного характера этого заболевания в некоторых регионах выращивания томата интенсивные усилия по селекции были направлены на создание устойчивых к TYLCV сортов, в основном в частных семеноводческих компаниях (Scott, 2007; Vidavski *et al.*, 2008).

Традиционная селекция привела к созданию сортов с пониженной восприимчивостью, но сортов с полной устойчивостью к TYLCV не существует. Кроме того, реакция устойчивых сортов на болезни часто варьируется от места к месту, и было трудно вывести устойчивые сорта с агрономическими характеристиками, сходными с теми у восприимчивых сортов (Scott, 2007). На сегодняшний день четыре локуса устойчивости, *Ty-1*, *Ty-2*, *Ty-3* и *Ty-4*, идентифицированы и картированы на хромосомах томата 6, 11, 6 и 3 соответственно (Zamir *et al.*, 1994; Chague *et al.*, 1994; Ji *et al.*, 2007b; Ji *et al.*, 2009a; Ji *et al.*, 2009b). Также было идентифицировано несколько QTL, придающих устойчивость к TYLCV (Agrama and Scott, 2006).

Как показано в Таблице 3, было разработано и описано по крайней мере шесть молекулярных маркеров на основе ПЦР, связанных с основными генами устойчивости. Однако отсутствие согласованных генетических маркеров, связанных с устойчивостью к TYLCV, препятствует применению MAS для этого признака. Кроме того, поскольку TYLCV считается опасным патогеном, скрининг генетических ресурсов на устойчивость, а также проверка любого генетического маркера были сложными.

1-3-3 Устойчивость томата к бронзовости

Вирус пятнистого увядания томата (Tomato spotted wilt virus, TSWV) относится к числу наиболее вредоносных вирусных патогенов, представляющих серьёзную угрозу для производства томата (*Solanum lycopersicum* L., syn. *Lycopersicon esculentum* Mill.) во многих регионах мира (Saidi and Warade, 2008). Заболевание характеризуется выраженной симптоматикой, включающей угнетение роста растений, а также развитие некротических поражений стеблей и листьев (German et al., 1992).

Основными переносчиками TSWV являются трипсы, посредством которых вирус передаётся от инфицированных растений к здоровым и способен вызывать системное поражение растений. Развитие инфекции сопровождается снижением продуктивности и ухудшением товарных качеств плодов. На плодах могут формироваться характерные хлоротические и некротические кольцевые пятна, вследствие чего поражённая продукция теряет товарную ценность (German et al., 1992; Saidi and Warade, 2008).

Селекция на генетическую устойчивость рассматривается как один из основных подходов к ограничению вредоносности TSWV. К настоящему времени описано восемь основных генетических факторов устойчивости к данному вирусу, включая пять доминантных генов — *Sw-1a*, *Sw-1b*, *Sw-5*, *Sw-6* и *Sw-7* — и три рецессивных гена — *sw-2*, *sw-3* и *sw-4* (Price et al., 2007; Saidi and Warade, 2008).

Использование устойчивости, по-видимому, является лучшим способом борьбы с болезнью. Известно восемь основных генов устойчивости, в том числе 5 доминантных генов *Sw-1a*, *Sw-1b*, *Sw-5*, *Sw-6* и *Sw-7* и 3 рецессивных гена *sw-2*, *sw-3* и *sw-4* (Price et al. 2007, Саиди и Вараде, 2008). Три рецессивных гена, *sw2*, *sw3* и *sw4*, и два доминантных гена *Sw1a* и *Sw1b* не использовались в коммерческом производстве томата, поскольку устойчивость была быстро преодолена (Price et al. 2007; Саиди и Вараде, 2008). *Sw-6* придавал частичную устойчивость к инокуляции трипсов и показал более узкий диапазон устойчивости к вирусным изолятам, чем *Sw-5* (Rosello et al.,

1998, 2001). Ген Sw-7 был идентифицирован и интрогрессирован из *Lycopersicon chilense* LA 1938 в геном *L. esculentum* (Canady et al., 2001; Stevens et al., 2006; Price et al., 2007; Saidi and Warade, 2008). В ходе исследований был выявлен AFLP-маркер (Amplified Fragment Length Polymorphism), потенциально сцепленный с данным геном устойчивости (Price et al., 2007). Ген Sw-7 был локализован на хромосоме 12, в интервале между маркерами T1263 и SSR20, расположенными на расстоянии 45,0 и 58,2 сМ соответственно (табл. 3).

Ген Sw-5 является одним из наиболее широко используемых генов устойчивости к TSWV в селекционных программах томата. Его широкое применение обусловлено способностью обеспечивать устойчивость к различным представителям рода *Tospovirus* (Boiteux and Giordano, 1992). Благодаря широкому спектру действия Sw-5 представляет значительный интерес для селекции сортов и гибридов томата с устойчивостью к вирусным заболеваниям. Ген Sw-5, впервые идентифицированный у *L. peruvianum*, также обеспечивает стабильную устойчивость к изолятам TSWV из разных географических мест.

1-3-4 Устойчивость к вирусу коричневой морщинистости плодов томата

Вирус коричневой морщинистости плодов томата (Tomato brown rugose fruit virus, ToBRFV) представляет значительную угрозу для современного производства томата вследствие высокой скорости распространения и способности поражать растения в различных регионах мира, включая Африку, Азию и Северную Америку. Особую опасность данного патогена представляет его способность преодолевать устойчивость, обусловленную генами *Tm-2* и *Tm-2²* (*Tm-2a*), которые на протяжении нескольких десятилетий широко использовались в селекции томата для защиты от тобамовирусов (Luria et al., 2017). Заражение вирусом может происходить при передаче с семенами в виде первичного инокулята и с пылью шмелями (*Bombus terrestris*) (Levitzky et al., 2019; Salem et al. 2022). Симптомы, вызванные ToBRFV, сильно различаются в зависимости от генотипа, возраста и окружающей среды зараженного

томата. Симптомы на листьях обычно проявляются в виде хлороза, мозаичности и пятнистости, иногда сопровождающихся сужением листьев. На плодах больных растений появляются желтые или коричневые морщинистые (морщинистые) пятна, что делает их непригодными для продажи (Salem et al. 2016; Luria et al. 2017).

Помимо томата, вирус коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV) способен поражать сладкий перец (*Capsicum annuum*), что расширяет круг потенциальных сельскохозяйственных культур-хозяев данного патогена (Salem et al., 2020; Panno et al., 2020). Отсутствие эффективной устойчивости к ToBRFV, обусловленной широко используемыми генами *Tm-2* и *Tm-2²* (*Tm-2a*), подчёркивает необходимость поиска и идентификации новых источников генетической устойчивости.

Таблица 3 - Молекулярные маркеры, связанные с генами устойчивости томата к вирусным заболеваниям: вирусу томатной мозаики (ToMV), вирусу желтой курчавости листьев томата (TYLCV) и вирусу бронзовости (TSWV), вирусу коричневой морщинистости томата (ToBRFV).

Заболевание	Ген	Маркер	Тип маркера	Идентификатор маркера	Праймер прямой 5'-3'	Праймер обратный 5'-3'	Ссылка
Вирус томатной мозаики ToMV	Tm-1	SCAR	Доминантный	SCN20	GGTGCTCCGTCGATGCAA AGTGCA	GGTGCTCCGTAGAC ATAAAATCTA	Arens et al., 2010
	Tm-2	RAPD	Доминантный	SCB12	CCTTGACGCAGATAATGT GATGTC	CCTTGACGCATTGA AAGAAATCAA	Sobir et al., 2000
	Tm-2	RAPD	Доминантный	SCE16	GGTGACTGTGTAATTATG TTGTGC	GGTGACTGTGGTGG AAAATGCAAA	Sobir et al., 2000
	Tm-2	RAPD	Доминантный	SCG09	CTGACGTCACCTTGTTGGT CTTTA	CTGACGTCACCTTAG CTTTGTAAAC	Sobir et al., 2000
	Tm-2	RAPD	Доминантный	SCI18	TGCCCAGCCTAATTGTCC CTAGGC	TGCCCAGCCTTGGA AAAAAAAGAT	Sobir et al., 2000
	Tm2	SCAR	Кодоминантный	SCN13	AGCGTCACTCCATACTTG GAATAA	AGCGTCACTCAAAA TGTACCCAAA	Sobir et al., 2000
	Tm-2 ²	SCAR	Кодоминантный	ToMV	CACCTTTCCCTAAAGC	CACCTTTCCCTCTC CAA	Dax et al., 1998
	Tm-2	SNP	Кодоминантный	TM2-748	CGGTCTGGGGAAAACAAC TCT	CTAGCGGTATACCT CCACATCTCC	Arens et al., 2010
	Tm-2	SNP	Кодоминантный	Tm2 ² SNP 2494	CTCATCAAGCTTACTCTA GCCTACTTTAGT	CTGCCAGTATATAA CGGTCTACCG	Arens et al., 2010

	Tm-2	SNP	Кодомина нтный	TM2- SNP901mis	CAAATTGGACTGACGGAA CAGAAAGTT	GCAGGTTGTCCTCC AAATTTTCCATC	Arens et al., 2010
	Tm-2	SNP	Кодомина нтный	TMV-2262	GGGTATACTGGGAGTGTC CAATTC	CCGTGCACGTTACT TCAGACAA	Arens et al., 2010
Вирус бронзовости TSWV	Sw-5	CAPS	Кодомина нтный	Sw5b-1RR	TCTTATATTGTGGAGTTTT TGTCG	TCCACCCTATCAAA TCCAAC	Garland et al., 2005
	Sw-5	CAPS	Кодомина нтный	CT220	AAGCCGAATTATCTGTCA AC	GTTCTGACCATTA CAAAAGTAC	Garland et al., 2005
	Sw-5	In-Del	Кодомина нтный	Sw5-2	AATTAGGTTCTTGAAGCC CATCT	TTCCGCATCAGCCA ATAGTGT	Dianese et al., 2010
	Sw-5	RAPD	доминантн ый	G5	CTGAGACGGA	-	Smiech et al., 2000
	Sw-5	RAPD	доминантн ый	K16	GAGCGTCGAA	-	Smiech et al., 2000
	Sw-5	RAPD	доминантн ый	S12	CTGGGTGAGT	-	Smiech et al., 2000
	Sw-5	RAPD	доминантн ый	P72	GAGCACGGGA	-	Stevens et al., 1995
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	Scr-002	CTGGGTGAGTCTTGACAT TT	CTGGGTGAGTACAT CAGATT	Chague et al., 1996
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	Scr-001	CTG GGT GAG TCT TGACAT TT	CTG GGT GAG TAC ATC AGA TT	Rosello et al., 2001
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	Sw-5-1'	TTTGGAGGTTTGGAGGAA GAAGAG	TCATGTCCGACCCA ATACCTAACT	Dianese et al., 2009

	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–2’	AATTAGGTTCTTGAAGCC CATCT	TTCCGCATCAGCCA ATAGTGT	Dianese et al., 2009
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–3’	GAATCTGTTTATGAGTGC GACCTT	ACACCCTCTTCTTC CTCCAAACCT	Dianese et al., 2009
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–4’	TTTTGCAAGAACATCATC AGTA	GGCGAAAATCCCA ACAAG-	Dianese et al., 2009
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–5’	AGTCTCCAAACATTCCTG CTTCTC	TTCTTTTGCCTGATT CCTTAGTCG	Dianese et al., 2009
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–7’	TCGCAACGTAATAAAGTC CCACAT	ACATACTTCAACAA CCTAAACTCC	Dianese et al., 2009
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	Sw 421-1/ Sw 421-2	GACTTGTTGCCATAGGTT CC	GCCCACCCCGAAGT TAATCC	Nascimento et al., 2009
	Sw-5	SCAR	-	Sw5 f2/ Sw5r2	CGGAACCTGTAACCTGAC TG	GAGCTCTCATCCAT TTCCG	Anong Shi et al., 2011
	Sw-5	SCAR	Кодомина нтный	‘Sw-5–6’	AATTCTTTCGGTTACAA	CCGCCTCTGAATAC AAAGTCGTCT	Dianese et al., 2009
Вирус желтой курчавости листьев томата TYLCV	Ty-1	CAPS	Кодомина нтный	Aps-1	GGCAGGAGAATATGCCAA AA	CGTTCCATTCTCAA CCCATT	de Castro et al., 2007a
	Ty-1	CAPS	Кодомина нтный	REX-1	TCGGAGCCTTGGTCTGAA TT	ATGCCAGAGATGAT TCGTGA	de Castro et al., 2007a
	Ty-1	CAPS	Кодомина нтный	JB-1	AACCATTATCCGGTTCAC TC	TTTCCATTCTTGTGTT TCTCTG	de Castro et al., 2007a
	Ty-2	SCAR	Кодомина нтный	TG0302	TGGCTCATCCTGAAGCTG ATAGCGC	AGTGTACATCCTTG CCATTGACT	Garcia et al., 2007

	Ty-2	SCAR	Кодомина нтный	TY-2R1		TGAT(T/G)TGATGTT CTC(T/A)TCTCT(C/A)	Garcia et al., 2007
	Ty-3a	SCAR	Кодомина нтный	FLUW-25	CAAGTGTGCATATACTTC ATA(T/G)TCACC	CCATATATAACCTC TGTTTCTATTTCTGA C	Ji et al., 2007a
Вирусу коричневой морщинисто сти томата ToBRFV	-	-	-	TBRFV-F-	5722 CACAATCGCAACTCCATC GC	6179 CAGAGGACCATTTGT AAACCGG	Panno et al., 2019b
	-	-	-	TBRFV	AATGTCCATGTTTGTTACG CC	CGAATGTGATTAA AACTGTGAAT	Alkowni et al., 2019
	-	-	-	TBRFV	GAAGTCCCGATGTCTGTA AGG	GTGCCTACGGATGT GTATGA	Ling et al., 2019
	-	-	-	ToBRFV	FMX AACCAGAGTCTTCCTATA CTCGGAA	RMX CTCWCCATCTCTTA ATAATCTCCT	Rodríguez- Mendoza et al., 2019
	-	-	-	ToBRFV	qs1 CAATCAGAGCACATTTGA A AGTGCA p1 6FAM- ACAATGGTCCTCTGCACC TG-BH	qas2 CAGACACAATCTGT TATTAAAGCATC	Menzel and Winter, 2019
	-	-	-	ToBRFV	F1GCCCATGGAACATCA GAAGAA P1FAMAGTCCCGATGTCTG TAAGGCTTG	R1 TTCCGGTCTTCGAA CGAAAT	Chanda et al., 2021a
	-	-	-	ToBRFV_F3	TTGGAGTCTTAGATGTTG CG	GGACACCGTCAACT AGGA	Rizzo et al., 2021
	-	-	-	ToBRFV_FIP	CCTTCTCCAACTGTCGCA AGTTACACATGCT	CCGTGAGTTCTGAG TCAATGGTTATGAG GC	
	-	-	-	ToBRFV_Loo p	CTCCATGCTCATCATACTC CAA	GCTCAGAACACTGA GGAGA	

1-4 Устойчивость томата к нематодам

Галловая нематода (*Meloidogyne* spp.) — один из самых распространенных вредителей томата. Эти нематоды проникают в корни и мигрируют в сосудистую систему, что приводит к образованию корневых узлов, которые влияют на распределение питательных веществ и поглощение воды в растении (Roberts and May, 1986). Поражение корневой системы галловыми нематодами приводит к нарушению функционирования проводящих тканей и, как следствие, к снижению темпов роста растений, развитию симптомов увядания и повышению их восприимчивости к другим фитопатогенам. Совокупное воздействие этих факторов может приводить к существенному снижению продуктивности растений, достигающему примерно 50 %.

Основным источником генетической устойчивости томата к галловым нематодам является ген *Mi-1*, интрогрессированный из *Lycopersicon peruvianum* L. Данный ген широко используется в селекции современных промышленных сортов томата благодаря способности обеспечивать устойчивость к трём наиболее значимым видам галловых нематод — *Meloidogyne arenaria*, *M. incognita* и *M. javanica* (Castagnone-Sereno et al., 1994). Структурно локус *Mi-1* представлен двумя тесно связанными кластерами, включающими соответственно три и четыре копии гомологов гена *Mi* (Seah et al., 2007).

Генетическое и физическое картирование локуса *Mi-1* показало его локализацию на коротком плече хромосомы 6 томата в непосредственной близости от кластера генов устойчивости *Cf-2/Cf-5* (Mieslerova et al., 1999). Помимо *Mi-1*, у образцов *S. peruvianum* были выявлены другие генетические факторы устойчивости к галловым нематодам, представленные как основными, так и минорными QTL. В частности, локус *Mi-4* тесно сцеплен с *Mi-1* на хромосоме 6, тогда как *Mi-3* и *Mi-5* локализованы на хромосоме 12, а *Mi-9* — на хромосоме 6. Кроме того, установлены генетические связи между локусами *Mi-2* и *Mi-8*, а также между *Mi-6* и *Mi-7* (Veremis et al., 2000;

Ammiraju et al., 2003). Однако практическое использование этих локусов резистентности еще недостаточно изучено. Аллель-специфические маркеры устойчивости к *Mi-1* приведены в табл. 4. Всего идентифицировано и картировано 9 генов и QTL устойчивости к этим патогенам.

Таблица 4 - Молекулярные маркеры, связанные с устойчивостью томата к нематодам

Заболевание	Ген	Маркер	Тип маркера	Идентификатор маркера	Праймер прямой 5'-3'	Праймер обратный 5'-3'	Источник
Галловые нематоды	Mi	CAPS	Кодоминантный	Aps	GGAACGTGGGTAGCAT ATGA	GCCAATGCTCATCAATGT GA	Ammiraju et al., 2003
	Mi	CAPS	Кодоминантный	C8B	TACCCACGCCCCATCA ATG	TTGCAAGAGGGTGAATAT TGAGTGC	Ammiraju et al., 2003
	Mi	CAPS	Кодоминантный	REX-1	TCGGAGCCTTGGTCTGA ATT	GCCAGAGATGATTCGTGA GA	Ammiraju et al., 2003
	Mi	CAPS	Кодоминантный	CT119	TCAGGTATCGAACCAA AC	TAAAAGGTTTCATCCTAAT A	Ammiraju et al., 2003
	Mi	RAPD	Доминантный	C1/2	CAGTGAAGTGGAAGTG ATGA	-	Devran et al., 2008
	Mi-1	RAPD	Доминантный	REX	TCGGAGCCTTGGTCTGA ATT	GCCAGAGATGATTCGTGA GA	Williamson et al., 1994
	Mi-1	SCAR	Кодоминантный	Mi23	TGG AAA AAT GTT GAA TTT CTT TTG	GCA TAC TAT ATG GCTTGT TTA CCC	Seah et al., 2007
	Mi-1	SCAR	Кодоминантный	PMi	GGTATGAGCATGCTTA ATCAGAGCTCTC	CCTACAAGAAATTATTGT GCGTGTGAATG	Arens et al., 2010
	Mi-3	SCAR	Кодоминантный	TG-180	ATACTTCTTTGCAGGAA CAGCT	CACATTAGTGATCATAAA GTACCAG	Yaghoobi et al.,2005
	Mi-3	SCAR	Кодоминантный	TG-263	GCTGAGAAATAAAGCT CTTGAG	TACCCTTAATGCTTCGGC AGTGG	Yaghoobi et al.,2005

1-5 Комбинационная способность

Комбинационная способность является важным показателем при оценке селекционной ценности родительских форм и определении эффективности их использования в гибридизации. Она отражает способность генотипа передавать потомству комплекс хозяйственно ценных признаков и формировать высокопродуктивные гибридные комбинации. При этом высокая хозяйственная ценность исходных родителей не всегда сопровождается получением превосходящего потомства, поскольку проявление признаков в гибридах определяется характером взаимодействия генов и особенностями их наследования (Бороевич, 1984).

Фенотипические характеристики родителей не позволяют с достаточной точностью прогнозировать результат конкретного скрещивания. Даже при наличии у исходных форм желательных признаков их сочетание в потомстве может быть различным. Поэтому оценка перспективности родительских компонентов должна основываться на результатах экспериментального изучения их гибридных комбинаций. Такой подход особенно важен при создании гетерозисных гибридов и при подборе исходного материала для последующей селекционной работы.

В селекционной практике выделяют **общую комбинационную способность (ОКС)** и **специфическую комбинационную способность (СКС)**. ОКС характеризует среднюю способность родительской формы проявлять высокие значения исследуемого признака при скрещивании с различными генотипами. Показатель ОКС в значительной степени отражает вклад аддитивных генетических эффектов в наследование признака (Davis, 1929).

СКС, напротив, характеризует результат конкретной комбинации двух родительских форм и определяется отклонением фактического значения признака у гибридного потомства от ожидаемого уровня, рассчитанного с учётом ОКС родителей. Проявление высокой или низкой СКС связано

преимущественно с неаддитивными генетическими эффектами, включая доминирование и эпистатические взаимодействия генов (Jinks, 1955).

1-6 Функциональная мужская стерильность (ФМС)

Мужская стерильность представляет собой генетически обусловленное нарушение формирования или функционирования мужских репродуктивных органов, вследствие которого растение не образует функциональную пыльцу либо теряет способность к её нормальному высвобождению из пыльников. В зависимости от локализации и характера действия генетических факторов выделяют ядерную, цитоплазматическую и ядерно-цитоплазматическую мужскую стерильность. Эти системы имеют существенное значение для селекции, поскольку позволяют контролировать опыление и использовать материнские формы при получении гибридных семян. Кроме того, применение мужской стерильности является одним из основных подходов к реализации эффекта гетерозиса в сельскохозяйственных культурах (Chen, Liu, 2014).

1.6.1. Цитоплазматическая мужская стерильность

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) преимущественно связана с особенностями митохондриального генома и характеризуется материнским типом наследования. В основе формирования ЦМС часто лежат структурные перестройки митохондриальной ДНК, в результате которых возникают новые химерные генетические структуры. Экспрессия таких структур может нарушать функционирование митохондрий в развивающихся пыльниках и приводить к нарушению микроспорогенеза и формированию стерильной пыльцы (Chase, 2007; Chen, Liu, 2014).

Важной особенностью ЦМС является тесное взаимодействие митохондриального и ядерного геномов. Мужская фертильность в ряде систем может восстанавливаться благодаря специфическим ядерным генам-восстановителям фертильности (*Rf*). Продукты этих генов способны изменять стабильность, процессинг или экспрессию митохондриальных транскриптов,

связанных с проявлением стерильности. Значительная часть известных генов *Rf* кодирует белки семейства PPR, участвующие в регуляции экспрессии генов митохондрий (Chase, 2007; Chen, Liu, 2014).

Селекционное значение ЦМС определяется возможностью получения растений, практически лишённых функциональной пыльцы, без необходимости индивидуального удаления тычинок. Это существенно упрощает направленное скрещивание и позволяет использовать стерильные растения в качестве материнских форм при производстве гибридных семян. Вместе с тем практическое применение ЦМС зависит от стабильности проявления стерильности, генотипа растения и наличия эффективной системы восстановления фертильности (Chase, 2007).

1.6.2. Ядерный генетический контроль мужской стерильности

Ядерная мужская стерильность (ЯМС), или геническая мужская стерильность, определяется генами ядерного генома и наследуется в соответствии с закономерностями передачи ядерных генов. Наиболее распространены рецессивные формы, при которых стерильный фенотип проявляется у растений, гомозиготных по соответствующему рецессивному аллелю. Однако в зависимости от конкретной генетической системы мужская стерильность может контролироваться также доминантными генами или несколькими взаимодействующими генами (Chen, Liu, 2014).

При рецессивном типе наследования скрещивание стерильного растения (*msms*) с фертильным гетерозиготным растением (*Msms*) теоретически приводит к расщеплению потомства по мужской фертильности в соотношении 1:1. Поэтому поддержание стерильной линии требует контроля генотипического состава потомства и последующего отбора стерильных растений.

Практическая эффективность ядерной мужской стерильности может быть повышена посредством применения молекулярных маркеров. Использование маркер-опосредованного отбора позволяет идентифицировать необходимые генотипы на ранних стадиях развития растений, ещё до наступления цветения. Такой подход особенно перспективен для селекционных программ, в которых требуется поддерживать стерильные линии и одновременно контролировать их генетическую чистоту.

1.6.3. Ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность

Ядерно-цитоплазматическая мужская стерильность (ЯЦМС) обусловлена взаимодействием генетических факторов митохондриального и ядерного геномов. В отличие от систем, в которых мужская стерильность определяется преимущественно одним генетическим компонентом, при ЯЦМС фенотип растения формируется в результате сочетания определённого типа цитоплазмы с конкретным ядерным генотипом.

Особое значение в таких системах имеют ядерные гены-восстановители фертильности (*Rf*), способные подавлять действие стерилизующих факторов митохондриального происхождения. Поэтому восстановление мужской фертильности у гибридного потомства определяется не только типом цитоплазмы, но и наличием соответствующих генов в ядерном геноме (Chase, 2007; Chen, Liu, 2014).

Использование ЯЦМС в гибридной селекции позволяет эффективно разделять функции материнской и отцовской форм: материнская линия обеспечивает стерильную цитоплазму, тогда как восстановление фертильности у гибридов может осуществляться за счёт ядерных генов родительской формы. Однако эффективность такой системы определяется стабильностью взаимодействия между ядерным и цитоплазматическим геномами и требует предварительной оценки совместимости родительских компонентов.

1.6.4. Функциональная мужская стерильность у томата

Функциональная мужская стерильность (ФМС) отличается от истинной стерильности тем, что процесс формирования жизнеспособной пыльцы может протекать относительно нормально, тогда как нарушается её высвобождение из пыльников. Наиболее характерным проявлением является отсутствие нормального растрескивания пыльников, вследствие чего пыльца остаётся внутри них и вероятность самоопыления существенно снижается.

ФМС представляет особый интерес для гибридного семеноводства томата. Одной из наиболее изученных систем является *ps-2*, при которой пыльники остаются нераскрытыми. Данная мутация имеет рецессивный характер и рассматривается как перспективный источник функциональной мужской стерильности для получения гибридных семян (Gorguet et al., 2006; Atanassova, 1999).

Исследования молекулярной природы *ps-2* показали, что данный фенотип обусловлен мутацией в гене, кодирующем полигалактуроназу. Нарушение его функционирования связано с аномальным сплайсингом пре-мРНК и приводит к нарушению процесса деградации клеточных структур в зоне дегисценции пыльника. В результате стоматий пыльника остаётся закрытым, что препятствует высвобождению зрелой пыльцы (Gorguet et al., 2009).

Селекционная ценность системы *ps-2* определяется возможностью её использования при производстве гибридных семян томата. Однако одним из ограничивающих факторов является вариабельность проявления признака. Исследования показали, что уровень самоопыления в линиях *ps-2* может изменяться в зависимости от года выращивания и генотипа, что необходимо учитывать при организации гибридного семеноводства (Atanassova, 1999).

Дополнительным преимуществом изучения *ps-2* является возможность его использования в маркер-опосредованной селекции. Точное картирование локуса *ps-2* позволило создать генетическую основу для разработки

молекулярных маркеров, пригодных для ранней идентификации растений с функциональной мужской стерильностью (Gorguet et al., 2006).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в 2021-2024 годах в ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева в селекционно-семеноводческом центре овощных культур.

2.1 Материалы

2-1-1. Скрининг коллекции линий томата по генам устойчивости к наиболее значимым заболеваниям.

В качестве исходного растительного материала в исследовании использовали коллекцию стерильных и фертильных линий индетерминантного томата с розовой окраской плодов, предоставленную коллекцией ООО «Селекционная станция имени Н. Н. Тимофеева». Всего в исследование было включено 19 генотипов томата, из которых 16 представляли стерильные линии и 3 — фертильные.

Стерильные линии характеризовались функциональной мужской стерильностью (ФМС) типа «Врбычанский низкий». Исследуемый селекционный материал представлял интерес в связи с наличием у отдельных линий устойчивости к ряду хозяйственно значимых заболеваний, а также комплекса ценных агробиологических и хозяйственных признаков.

Сформированная генетическая коллекция была использована для проведения молекулярно-генетического скрининга с целью выявления аллельных вариантов генов, ассоциированных с устойчивостью томата к наиболее распространенным и экономически значимым заболеваниям. Анализ проводили по локусам I-2, Ve, Mi-2, Tm-2², Cf-2, Cf-5, Sw-5, Ph-3, Ty-2, Ol-1 и Ol-3, связанным с устойчивостью к фузариозному и вертициллезному увяданию, галловой нематодой, вирусным и грибным заболеваниям томата.

2-1-2. Оценка комбинационной способности линий томата

В 2021 г. были проведены скрещивания 20 линий томата, характеризующихся функциональной мужской стерильностью, с тремя

фертильными линиями, использованными в качестве отцовских компонентов. В результате было получено 60 гибридных комбинаций, которые в дальнейшем были использованы для оценки комбинационной способности родительских форм и характера наследования изучаемых хозяйственно ценных признаков. Таким образом, исследования проводили по полной схеме скрещиваний, включавшей 20 материнских и 3 отцовские формы : Роз ст (22)3, Роз ст 2-2, Роз ст (20)4, Роз ст (16)3, Роз ст (15)1, Роз ст 13. (31), Роз ст (12)4, Роз ст (0-1), Роз ст 6-322, Роз ст 3-6, Роз ст 3-14, Роз ст 6-321, Роз ст 5-1 , Роз ст 7-3, Роз ст 8-61, Роз ст 4-43, Роз ст 3-23, Роз ст 1-3, Роз ст 9-12 и Роз ст 9-1 2017 г. с 3 фертильными линиями. Семена плодов этих скрещиваний собирали и использовали для посева гибридов F1. В 2022 году в общей сложности 60 гибридных комбинаций от этих скрещиваний (Таблица 5) были посеяны в кассеты, наполненные богатым питательными веществами субстратом. 15-дневную рассаду томата пересадили в небольшие горшки, а через 20 дней молодые растения высадили прямо в грунтовую теплицу.

Таблица 5 - Гибридные комбинации томата, полученные путем скрещивания стерильных и фертильных линий в системе скрещиваний топ-кросс

Стерильные линий:	Фертильные линии		
	РБК1-251	Клибка куба (кк)	518-1133
Роз ст (22)3	Роз ст (22)3× РБК1-251	Роз ст (22)3× кк	Роз ст (22)3× 518-1133
Роз ст 2-2	Роз ст 2-2 × РБК1-251	Роз ст 2-2× кк	Роз ст 2-2× 518-1133
Роз ст (20)4	Роз ст 2-2× РБК1-251	Роз ст (20)4× кк	Роз ст (20)4× 518-1133
Роз ст (16)3	Роз ст (16)3× РБК1-251	Роз ст (16)3× кк	Роз ст (16)3× 518-1133
Роз ст (15)1	Роз ст (15)1× РБК1-251	Роз ст (15)1× кк	Роз ст (15)1× 518-1133
Роз ст 13(31)	Роз ст (14)2× РБК1-251	Роз ст 13(31) × кк	Роз ст 13(31) × 518-1133
Роз ст (12)4	Роз ст (12)4× РБК1-251	Роз ст (12)4× кк	Роз ст (12)4× 518-1133
Роз ст (0-1)	Роз ст (0-1) × РБК1-251	Роз ст (0-1) × кк	Роз ст (0-1) × 518-1133
Роз ст 6-322	Роз ст 6-322× РБК1-251	Роз ст 6-322× кк	Роз ст 6-322× 518-1133
Роз ст 3-6	Роз ст 3-6× РБК1-251	Роз ст 3-6× кк	Роз ст 3-6× 518-1133
Роз ст 3-14	Роз ст 3-14 × РБК1-251	Роз ст 3-14× кк	Роз ст 3-14× 518-1133
Роз ст 6-321	Роз ст 6-321 × РБК1-251	Роз ст 6-321× кк	Роз ст 6-321× 518-1133
Роз ст 5-1	Роз ст 5-1× РБК1-251	Роз ст 5-1× кк	Роз ст 5-1× 518-1133
Роз ст 7-3	Роз ст 7-3× РБК1-251	Роз ст 7-3× кк	Роз ст 7-3× 518-1133
Роз ст 8-61	Роз ст 8-61× РБК1-251	Роз ст 8-61× кк	Роз ст 8-61× 518-1133
Роз ст 4-43	Роз ст 4-43× РБК1-251	Роз ст 4-43× кк	Роз ст 4-43× 518-1133
Роз ст 3-23	Роз ст 3-23 × РБК1-251	Роз ст 3-23× кк	Роз ст 3-23× 518-1133

Роз ст 1-3	Роз ст 1-3 × РБК1-251	Роз ст 1-3× кк	Роз ст 1-3× 518-1133
Роз ст 9-121	Роз ст 9-121 × РБК1-251	Роз ст 9-121× кк	Роз ст 9-121× 518-1133
Роз ст 9-1 2017	Роз ст 9-1 2017× РБК1- 251	Роз ст 9-1 2017× кк	Роз ст 9-1 2017× 518- 1133

В 2023 г. из 60 гибридных комбинаций F_1 , полученных и изученных на предыдущем этапе исследования, для дальнейшего испытания были отобраны 7 наиболее перспективных гибридов. Отбор проводили с учетом комплекса хозяйственно ценных признаков, а также наличия генетических факторов устойчивости к основным вредоносным заболеваниям томата.

Выделенные гибридные комбинации использовали для последующего изучения характера проявления хозяйственно ценных признаков и оценки их селекционной перспективности. Особое внимание уделяли гибридам индетерминантного типа с розовой окраской плодов, характеризующимся сочетанием комплекса хозяйственно ценных признаков и генов устойчивости к основным патогенам.

Молекулярно-генетическая характеристика отобранных гибридов включала идентификацию генов устойчивости к фузариозному увяданию (*I-2*), вирусу пятнистого увядания томата (*Sw-5*), вертициллезному увяданию (*Ve*), вирусу томатной мозаики (*Tm-2²*), кладоспориозу (*Cf-2*, *Cf-5*), галловой нематоды (*Mi-2*), вирусу желтой курчавости листьев томата (*Tu-2*) и мучнистой росе (*Ol-1*).

2-1-3. Скрининг устойчивости и восприимчивых к фитофторозу

Для проведения молекулярно-генетического скрининга по признаку устойчивости/ восприимчивости к фитофторозу в исследование был включён растительный материал, представленный 12 линиями томата F_3 -поколения из генетической коллекции ООО «Селекционная станция имени Н. Н. Тимофеева».

Отобранные линии F_3 были высажены в открытый грунт в 2023 г. для последующего фенотипического и молекулярно-генетического анализа. В

общей сложности в исследовании было проанализировано 335 растений, относящихся к 12 исследуемым линиям F₃.

Полученный материал использовали для оценки соответствия молекулярно-генетических маркеров фенотипическому проявлению устойчивости или восприимчивости растений к *Phytophthora infestans*, а также для определения перспективности выявленных генотипов в дальнейшей селекционной работе.

2-2. Методы исследований

2-2.1 Выделение ДНК

Геномную ДНК из образцов растительного материала выделяли с использованием СТАВ-метода (цетилтриметиламмония бромид) в соответствии со стандартным протоколом, описанным Doyle (1991). Для выделения ДНК использовали 100–150 мг свежей ткани молодых листьев каждого исследуемого растения. Полученные препараты геномной ДНК использовали в последующем для проведения ПЦР-скрининга с целью выявления молекулярных маркеров, ассоциированных с устойчивостью растений к фитофторозу.

2-2.2 ПЦР-амплификация геномной ДНК

ПЦР-анализ проводили для 19 исследуемых линий томата. В общей сложности было исследовано 32 молекулярных маркера, ассоциированных с генами устойчивости к девяти заболеваниям (табл. 6). Для оптимизации условий проведения ПЦР-анализа при молекулярно-генетическом скрининге исследуемых линий томата на наличие генов устойчивости и восприимчивости к различным заболеваниям использовали реакционные смеси, разработанные и применявшиеся ранее другими исследователями, с внесением отдельных модификаций в состав и/или условия проведения реакции.

Таблица 6 - Нуклеотидные последовательности ПЦР-праймеров к
генам устойчивости

Заболевание	Ген устойчивости	Наименование маркера	Нуклеотидная последовательность праймеров	Литературный источник
ТоMV, мозаика томата	tm-2/Tm-2, Tm-2 ²	PrRuG151 F	GAGTTCTTCCGTTCAAAT CCTAAGCTTGAGAAG	Sobir <i>et al.</i> , 2000
		PrRuG086 R	TACTACACTCACGTTGCT GTGATGCAC	
		PrRuG248	AGCGTCACTCCATACTTG GAATAA	Sobir <i>et al.</i> , 2000
		PrRuG249	AGCGTCACTCAAAATGT ACCCAAA	
Кладоспориоз	Cf-2/5	2-5CF	F GCTATCTTTGGGTATCAA AATCTT	Dixon <i>et al.</i> , 1998
		2-2CR	R AGATGACATCGACAAAA TGTG	
	CF6	SSR128F	F Cy5GGTCCAGTTCAATCA ACCGA	Dixon <i>et al.</i> , 1998
		SSR128R	R TGAAGTCGTCTCATGGTT CG	
		SSR48F	5ATCTCCTTGGCCTCCTG TTT	Dixon <i>et al.</i> , 1998
		SSR48R	GTCATGGCCACATGAAT ACG	
Желтая курчавость листьев	Ty-3/ Ty-3a	FLUW-25F	CAAGTGTGCATATACTTC ATA(T/G)TCACC	Ji <i>et al.</i> , 2007a
		FLUW-25 R	CCATATATAACCTCTGTT TCTATTTTCGAC	
	Ty-2	P1-16 F	CACACATATCCTCTATCC TATTAGCTG	Yang <i>et al.</i> , 2014
		P1-16 R	CGGAGCTGAATTGTATA AACACG	
Фузариоз	I2	LR1	ACT CTA CAA ATC TGG A AT TTC CTT	Куклев и др., 2007
		LR2	AAA TTC TAG TAG TGG TGT GA	
		V127	TGG AAC AAT GTC GGC ACT TAT CTT	Куклев и др., 2007

		VU127	CAA CCA CAT TTT CCA ACT TCA CAA	Куклев и др., 2007
		CI	CCT CCT TTT CTC ACC TCA CTT CGC	
		C2	ATT TGT GGC CAG TAT TCC CC	
		FG1	ATG GAG ATT GGC TTA GCA GTT GGT	
		LF127	TCG TTG TAA TTT TCA TTC CAC ACA	
		LF79	CAT TTC TCA ATT CAT CCC ACT CGT	
		LF78	TCA TTC CAC ACG TCA TCA AGG ACA	
		F7	CAG TTG TGA AGT TGG AAA ATG TGG	
		FU7	CAA TTT CAA TTT TGG GCA ACG AGA	
		L79	ATT TAG GCA ACC AAT TCT TTC TCG	
		LU79	TGG GCG TAG CTC ATC A AG TAT GTA	
		M78	TCT TGT TGT CCT TGA TGA CGT GTG	
		MU78	CTA TTG AAT AGG ACA TGT GCC GAC	
		U127	GTT GAG GAC ATT GCT TCC GAT ACG	
		UN127	AAC AAC TGG ACA ATC ACT AAC TTC	
		U78	ACT CGA TAA AGT ATT GGT TAC CCG	
		UN78	TCA GCT ACA AGT CAA ATT GAA GGC	
		UP78	TGT ATT GAT TAT ATG GTA GGC CCC	
Вертициллез	Ve	VF	AGC TTA TTC ATT CCA CCC A 3*	Куклев и др., 2007
		VR	CTG AAT AGC AAG ACA ACG TGG C	
		VVF1	TTG GCA AAA TGG AAC GAC ATG ACA	Куклев и др., 2007
		VVR1	GAG CCC AGG GTC AAT GTA GTC AAG	

Фитофтороз		VVF2	GAC TAC ATT GAC CCT GGG CTC TTG	Куклев и др., 2007
		VVR2	TGA GAG CAC CTT AAG CCT TTC AAT	
	R1	R1-1400:76-F	CACTCGTGACATATCCTC ACTA	Huang <i>et al.</i> , 2005.
		R1-1400:76-R	CAACCCTGGCATGCCAC G	
	R3a	R1-1205:76-F	CACTCGTGACATATCCTC ACTA	Huang <i>et al.</i> , 2005
		R1-1205:6300-R	GTAGTACCTATCTTATTT CTGCAAGAAT	
		RT-R3a:RT-R3a-F	ATCGTTGTCATGCTATGA GATTGTT	
		RT-R3a:RT-R3a	RCTTCAAGGTAGTGGGC AGTATGCTT	
	Ph-3	R3-1380:R3a-F	TCCGACATGTATTGATCT CCCTGAGCCA	Robbins <i>et al.</i> , 2010
		R3-1380:R3a- R	CTTCAGCTTCTTACAGTA GG	
		TG328F	F GGT GAT CTG CTT ATA GAC TTG GG	
		TG328R	R AAG GTC TAA AGA AGG CTG GTG C	
TSWV, вирус бронзовости томата		Sw 421-1	GACTTGTGCCATAGGTT CC	R. Do Nascimento <i>et al.</i> , 2009
		Sw 421-2	GCCCACCCCGAAGTTAA TCC	
	SW5	Sw5-f1	AACCACTAGGGGCAGTC CTT	Shi <i>et al.</i> , 2011
		Sw5-r1	CTCACTATGTGGCTGCTC CA	
		Sw5-f2	CGGAACCTGTAACCTGA CTG	
		Sw5-r2	GAGCTCTCATCCATTTTC CG	
		ZUP641	AAGCCGAATTATCTGTC AAC	Langella <i>et al.</i> , 2004
		ZUP642	GTTCCCTGACCATTACAA AAGTAC	
Галловая нематода	Mi23	Mi23F5'	TGGAAAAATGTTGAATT TCTTTTG	
		Mi23R5	GCATACTATATGGCTTGT TTACCC	

Мучнистая роса	Ol	SCAE16F	TCCGTGCTGAATGAAGA
			TTCAAAC
		SCAE16R	TCCGTGCTGATAAAACT
			GTTAGAC

2-2.3 Различные составы реакционных смеси.

Для оптимизации условий проведения ПЦР использовали различные реакционные смеси. Все эти реакционные смеси состоят из 25 mM MgCl₂, 2 mM dNTP, 2 mM праймера, 50-100 нг ДНК (Приложение I). Всего было использовано шесть реакционных смесей, пронумерованных от 1 до 6 и различавшихся только объемами каждой из них по своему составу (Табл. 7).

Таблица 7- Различные условия проведения ПЦР для оптимизации условий проведения ПЦР

Стадии ПЦР	Условия 1	Условия 2	Условия 3	Sw5-f1 Shi, 2011	Sw5-f2 Shi, 2011	Langella, 2015,
Начальная денатурац ия	5 мин при 94°C	30с мин при 94°C	3 мин при 95°C	1 мин при 95°C	1 мин при 95°C	3 мин при 94°C;
Циклы	40 циклов	40 циклов	34 циклов	40 циклов	36 циклов	30 циклов
Денатурац ия	30 с. при 95°C	20 с. при 94°C	30 с. при 95°C	30 с. при 94°C	по 15 с при 94°C	1 мин. при 94°C
Отжиг праймеров	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин 15 с при 72°C	15 с при 56°C и 45 с при 72°C.	30с при 50°C и 1 мин 15 с при 72°C

Элонгация	при 72°C , 5 мин	6 мин при 72°C	при 72°C , 5 мин	при 72°C , 5 мин	при 72°C , 5 мин	5 мин при 72°C
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C	при 4°C	при 4°C	при 12°C

Три разные реакционные смеси были отобраны и протестированы для каждого молекулярного маркера. Первая представляет собой стандартную реакционную смесь из оригинального литературного источника, две другие получены из нескольких модификаций первой (Табл. 8).

Таблица 8 - Подбор компонентов реакционной смеси для оптимизации амплификации ПЦР-продуктов, мкл

Праймеры	Компоненты реакцион- ной смеси	Смесь 1	Смесь 2	Смесь 3	Смесь 4	Смесь 5	Смесь 6
U127/UN127, U78/UN78, U78/UP78, VF/VR, VVF1/VVR1, VVF2/VVR2, SSR48F/SSR48R, SSR128F/SSR128R, Sw-421-1/Sw-421-2, ZUP641/ZUP642, Sw5f1/Sw5-r1, Sw5-f2/Sw5-r2, Mi23 F/ Mi23R, FLUW-25F/FLUW-25R, P1- 16F/P1-16R, PrRuG151F/PrRuG086, PrRuG248/PrRuG249, 2-5CF/2-2CR, TG328F/TG328R, SCAE16F/SCAE16R	Вода	2,5	3	2,25	1,5	2,5	4,2
	MgCl ₂	2	1,5	2,5	2	-	0,3
	Буфер	1	1	1	2	3	1
	dNTP	1	1	1	1	1	1
	Праймер прямой	1	1	0,75	1	1	1
	Праймер обратный	1	1	0,75	1	1	1
	Тaq- полимераза	0,5	0,5	0,75	0,5	0,5	0,5
	ДНК	1	1	1	1	1	1

2-2.4 Методка анализа комбинационной способности

Экспериментальную систему скрещиваний двух групп генотипов, представленных 20 фертильными мужскостерильными (ФМС) линиями и тремя фертильными линиями, реализовали в 2021 г. в условиях защищённого грунта. Фертильные линии использовали в качестве отцовских форм и скрещивали с ФМС-линиями, выступавшими в качестве материнских форм. В результате было получено 60 гибридных комбинаций.

Полученные гибриды выращивали и оценивали в условиях защищённого грунта в 2022 и 2023 гг. В ходе исследований определяли следующие хозяйственно-биологические и фенологические признаки: число плодов на растении, шт./раст.; среднюю массу плода, г; число листьев до первого соцветия, шт.; продолжительность периода от всходов до начала цветения, сут.; продолжительность периода от всходов до начала созревания, сут.

Комбинационную способность исходных родительских форм и гибридных комбинаций оценивали по методу В. К. Савченко с использованием модели I. Математическая модель I для оценки комбинационной способности имеет следующий вид:

$$x_{ij} = u + g_i + g_j + s_{ij} + \frac{1}{bc} \sum e_{ijkl} \begin{cases} i = 1, \dots, p_1 \\ j = 1, \dots, p_2 \\ k = 1, \dots, b \\ l = 1, \dots, c \end{cases}$$

где x_{ij} - среднее значение признака гибридной комбинации, u – средняя популяционная, g_i - эффект ОКС i –го родителя, g_j - эффект ОКС j – го родителя, s_{ij} - эффект СКС в комбинации скрещивания i – того с j – тым родителем, e_{ijkl} - случайное отклонение, связанное с $ijkl$ индивидуальным наблюдением (Савченко В.К., 1973).

Общую комбинационну способность (ОКС) для одного родителя вычисляли по формуле:

$$g_i = \frac{1}{2P_2} (X_j + X_i) - \frac{1}{2P_1P_2} X_{..} \quad g_j = \frac{1}{2P_1} (X_j + X_i) - \frac{1}{2P_1P_2} X_{..}$$

Специфическая комбинационная способность (СКС) вычисляли по формуле:

$$s_{ij} = \frac{1}{2}(x_i + x_j) - g_i - g_j - u$$

Вариансу специфической комбинационной способности, свойственной конкретной линии, вычисляли по формуле:

$$\sigma_{si}^2 = \frac{1}{P_2 - 1} \sum s_{ij}^2 - \frac{(P_1 - 1)(P_2 - 1)}{2P_1P_2} \sigma^2$$

2-2-5 Оценка устойчивости/восприимчивости к фитофторозу

Для создания искусственного инфекционного фона использовали образцы *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, собранные в естественных условиях на поражённых растениях томата. Инфицированные листья томата отбирали и выдерживали при температуре 4 °С в течение 4 ч. Затем образцы поражённых листьев помещали в дистиллированную воду на 15 мин для получения суспензии инокулюма.

Полученную суспензию ооспор *P. infestans* использовали для искусственной инокуляции растений томата в условиях полевого эксперимента, проведённого в двух повторностях. Растения каждой из 12 исследуемых линий томата разделяли на опытную и контрольную группы. Инокуляцию растений проводили путём нанесения суспензии инокулюма *P. infestans* в утренние часы, около 9:00–10:00, за несколько дней до начала цветения.

Оценку устойчивости растений к *P. infestans* проводили на основании наличия или отсутствия симптомов поражения в соответствии со стандартной методикой (Robbins et al., 2010). Фитопатологическое состояние растений оценивали визуально по характерным симптомам заболевания. К основным

диагностическим признакам относили появление на листьях и плодах томата пятен с белым мицелиальным налётом, которые по мере развития заболевания увеличивались в размерах и приобретали тёмно-коричневую или чёрную окраску. На плодах дополнительно отмечали наличие характерной коричневой мраморности.

Все листочки листа вянут и полностью чернеют отмирают. На стебле и черешках могут появиться темно-коричневые язвы. На плодах характерны коричневые участки неправильной формы, имеющие бронзовый и блестящий вид. Эти симптомы регулярно развиваются из области плодоножки (точки прикрепления плода). Плоды часто имеют бугристый вид. На пораженных частях плода может появиться белый налет. Внутренняя часть плода имеет пробковую текстуру и коричневый цвет.

Для создания искусственного инфекционного фона использовали образцы *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, собранные в естественных условиях на поражённых растениях томата. Инфицированные листья томата отбирали и выдерживали при температуре 4 °C в течение 4 ч. Затем образцы поражённых листьев помещали в дистиллированную воду на 15 мин для получения суспензии инокулюма.

Полученную суспензию ооспор *P. infestans* использовали для искусственной инокуляции растений томата в условиях полевого эксперимента, проведённого в двух повторностях. Растения каждой из 12 исследуемых линий томата разделяли на опытную и контрольную группы. Инокуляцию растений проводили путём нанесения суспензии инокулюма *P. infestans* в утренние часы, около 9:00–10:00, за несколько дней до начала цветения.

Оценку устойчивости растений к *P. infestans* проводили на основании наличия или отсутствия симптомов поражения в соответствии со стандартной методикой (Robbins et al., 2010). Фитопатологическое состояние растений оценивали визуально по характерным симптомам заболевания. К основным диагностическим признакам относили появление на листьях и плодах томата

пятен с белым мицелиальным налётом, которые по мере развития заболевания увеличивались в размерах и приобретали тёмно-коричневую или чёрную окраску. На плодах дополнительно отмечали наличие характерной коричневой мраморности.

2-2.6 Статистический анализ

Результаты расщепления фенотипического проявления признака устойчивости к фитофторозу томата обрабатывали с помощью χ^2 (хи-квадрат) с целью изучения характера наследования.

Дисперсионный анализ был проведен с помощью программы Statistica версии 6.0 и программы Excel.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

3-1 Молекулярно-генетический скрининг генетической коллекции (линий) томата по генам устойчивости (*I₂*, *Ve*, *Mi23*, *Tm-2²*, *Cf-2*, *Cf-5*, *Sw5*, *Ph3*, *Ty-2*, *Ol-1*) к наиболее значимым заболеваниям

В рамках настоящего исследования проведён молекулярно-генетический анализ маркеров, ассоциированных с генами устойчивости к девяти наиболее распространённым заболеваниям томата. Верификацию маркеров проводили для генов устойчивости к основным грибным, вирусным и нематодным заболеваниям культуры. В исследуемой коллекции фертильных и фертильно-мужскостерильных линий томата с индетерминантным типом роста и розовой окраской плодов анализировали маркеры, ассоциированные с геном *I₂*, обеспечивающим устойчивость к фузариозному увяданию; геном *Ve*, обуславливающим устойчивость к вертициллёзному увяданию; генами *Cf-2* и *Cf-5*, связанными с устойчивостью к кладоспориозу; генами *Ph3*, *R1* и *R3a*, ассоциированными с устойчивостью к фитофторозу; геном *Ol*, обеспечивающим устойчивость к мучнистой росе; геном *Mi-2*, связанным с устойчивостью к нематодам; геном *Sw-5*, обуславливающим устойчивость к вирусу пятнистого увядания томата (TSWV); геном *Tm-2²*, ассоциированным с устойчивостью к вирусу табачной мозаики (ToMV), а также генами *Ty-2* и *Ty-3a*, связанными с устойчивостью к вирусу жёлтой курчавости листьев томата (TYLCV).

3-1-1 Наличие генов устойчивости к фузариозному увяданию и вертициллёзу у изученных линий томата

По результатам ПЦР-анализа в 16 фертильно-мужскостерильных (ФМС) линиях томата и в одной фертильной линии (518-1133) выявлены молекулярные маркеры, ассоциированные с генами *Ve1* и *Ve2*, обуславливающими устойчивость к вертициллёзному увяданию.

Генетический анализ исследуемой коллекции на наличие делеции размером 36 п.н. в локусе *Ve*, ассоциированной с устойчивостью томата к

вертициллёзному увяданию, проводили с использованием SCAR-маркера на основе пары праймеров VF и VR. В результате ПЦР у исследованных образцов были выявлены два амплифицированных фрагмента размером приблизительно 250 и 300 п.н. Вместе с тем, ожидаемые размеры фрагментов для данного маркера составляли около 164 и 200 п.н., соответственно.

Наличие двух амплификационных продуктов может свидетельствовать о гетерозиготном состоянии исследуемого локуса. Однако выявленные размеры фрагментов не соответствовали ожидаемым значениям, что требует осторожной интерпретации результатов генотипирования. При этом по данным анализа исследованные генотипы, за исключением линии 518-1133, были отнесены к гомозиготным по аллелю, ассоциированному с устойчивостью к вертициллёзному увяданию (рис. 1а–с).

Для идентификации аллеля, ассоциированного с устойчивостью к фузариозному увяданию, проводили рестрикционный анализ продуктов ПЦР, полученных с использованием маркера U78/UP78, специфичного для локуса *I2C-1*. Обработку ПЦР-продуктов проводили эндонуклеазой рестрикции *AccI*.

В результате рестрикционного анализа на электрофореграмме, наряду с исходным ПЦР-продуктом размером 845 п.н., наблюдали два фрагмента размером 446 и 399 п.н. (рис. 1е). Суммарный размер полученных рестрикционных фрагментов составлял 845 п.н., что соответствует размеру исходного амплифицированного продукта. Наличие двух фрагментов свидетельствует о присутствии в исследуемом ПЦР-продукте одного сайта рестрикции эндонуклеазы *AccI*, расположенного таким образом, что в результате гидролиза образуются фрагменты размером 446 и 399 п.н.

Полученные результаты согласуются с данными, представленными Куклевым и соавт. (2007), относительно полиморфизма локуса *I2* и особенностей рестрикционного анализа соответствующих ПЦР-продуктов.

Следует отметить, что локус *I2* у устойчивых генотипов характеризуется сложной структурой и включает группу гомологичных

последовательностей. Согласно данным литературы, ген *I2*, ассоциированный с устойчивостью к фузариозному увяданию, был интрогрессирован в геном культурного томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) от дикого вида *Solanum pimpinellifolium* (Куклев М. Ю. и соавт., 2006). Выявленные особенности профиля рестрикции могут быть обусловлены амплификацией гомологичных последовательностей, входящих в состав локуса *I2*.

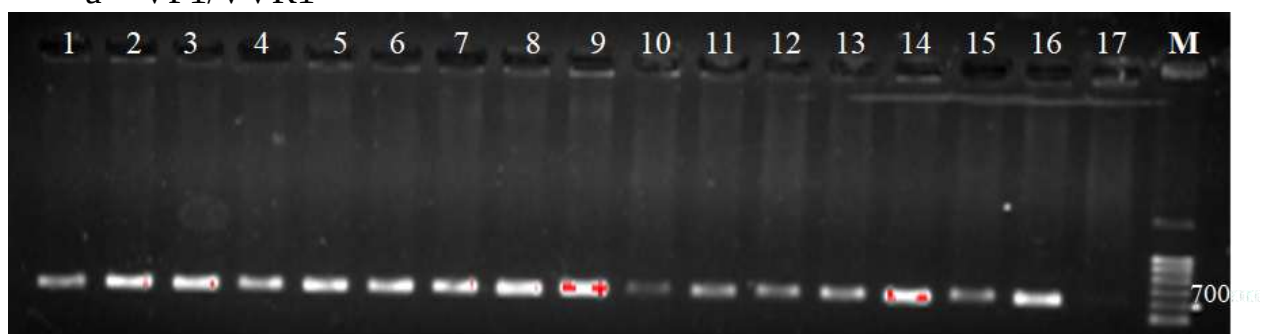
Следует отметить, что только пара маркеров U78/UP78 позволила амплифицировать ген *I2* устойчивости к фузариозному увяданию (рис. 1 е), тогда как все остальные использованные маркеры не позволили идентифицировать ген *I2* (рис. 1 d, f, g, h, i).

Куклев и др. (2007) показали, что пары праймеров U78-UN78, U78-UP78 и U127-UN127 амплифицируют соответственно фрагменты генов *I2-I2C-1*, *I2-J2C-1* и *I2*. Гены *I2-I2C-1* и *I2-J2C-1* гомологичны другим генам устойчивости к фузариозному увяданию, выявленным у устойчивых генотипов, и обуславливают частичную устойчивость растений к заболеванию.

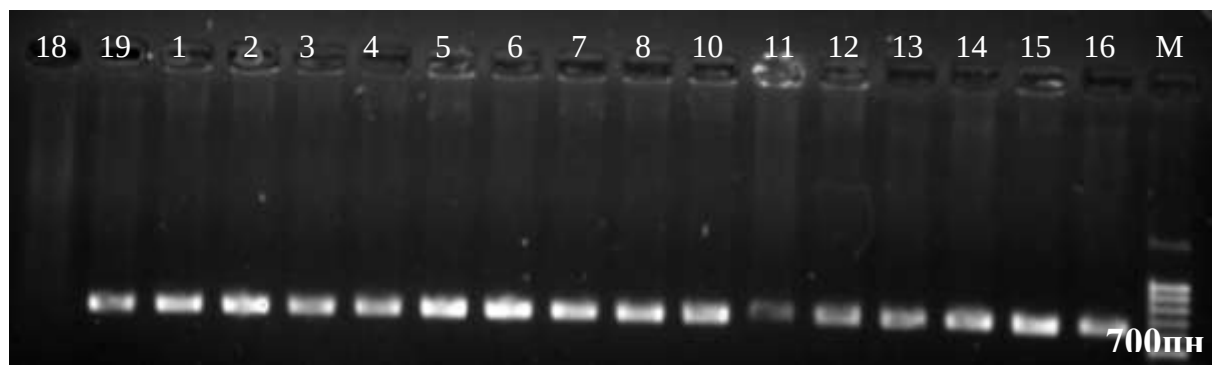
Установлено, что три указанных маркера амплифицировали ген *I2* у 16 линий, представленных среди изученных стерильных линий, что свидетельствует о наличии данного гена в их генотипах. При этом маркер гена *I2* отсутствовал у большинства фертильных линий, за исключением линии 518-1133.

Анализ результатов ПЦР с использованием кодоминантных маркеров U78-UP78 и U127-UN127 показал, что 16 стерильных линий несут ген *I2-I2C-1* в гетерозиготном состоянии, а ген *I2-J2C-1* — в гомозиготном состоянии. В то же время у фертильных линий РБК1-251 и «Клибка куба» соответствующие маркеры данного гена отсутствовали.

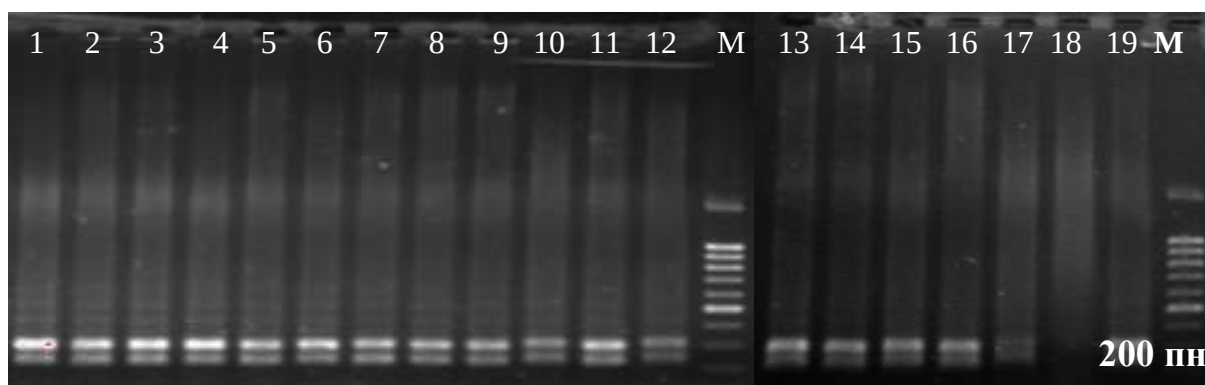
a- VF1/VVR1



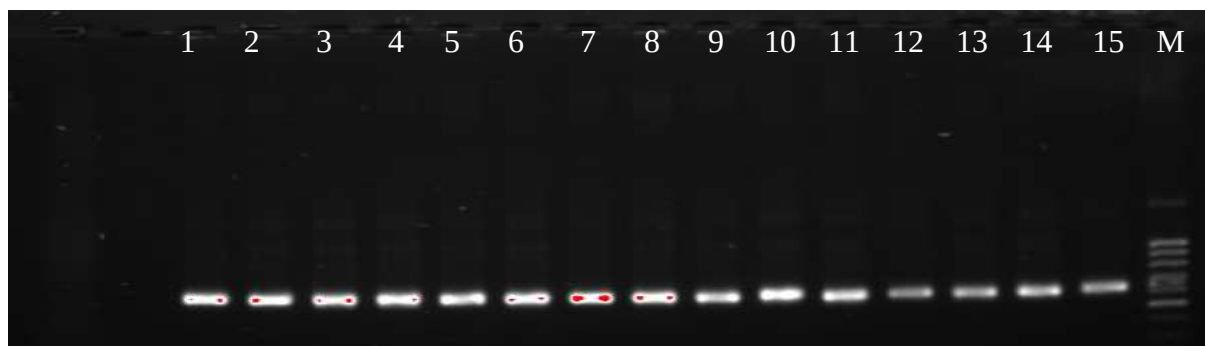
b- VVF2/VVR2



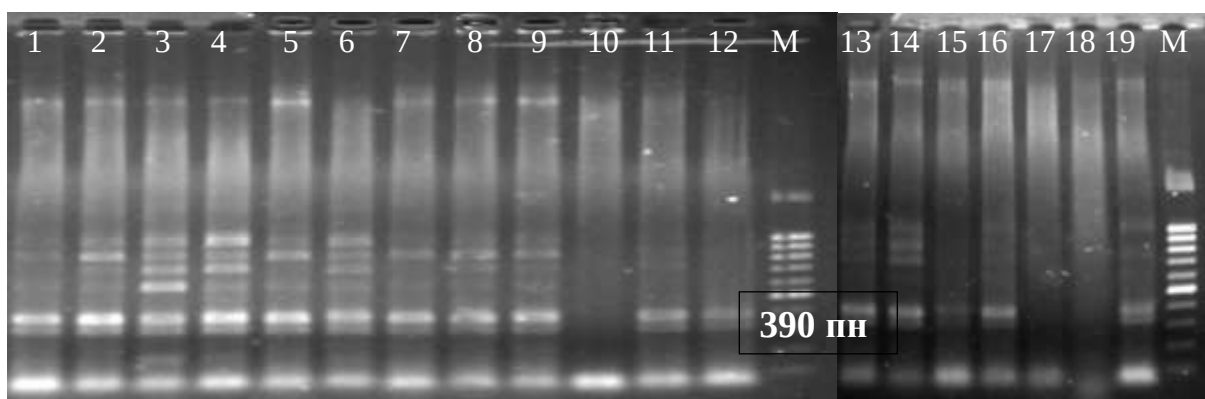
c- VF/VR



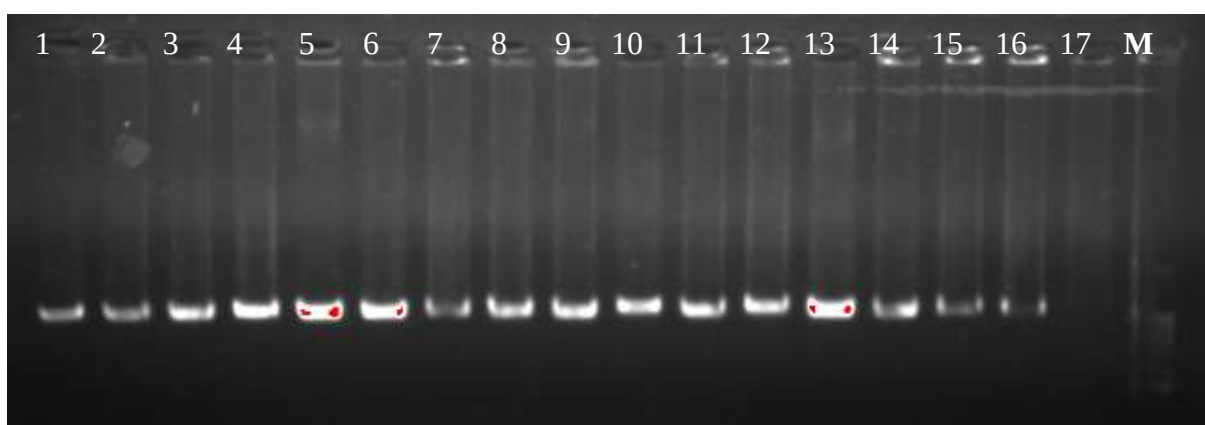
d- U78/UN78



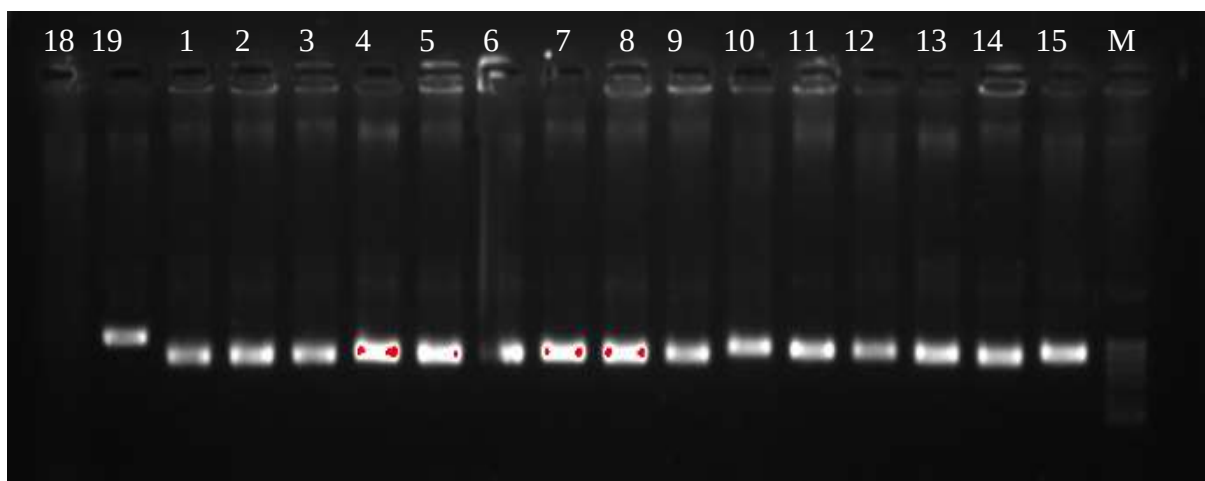
e- U78/UP78



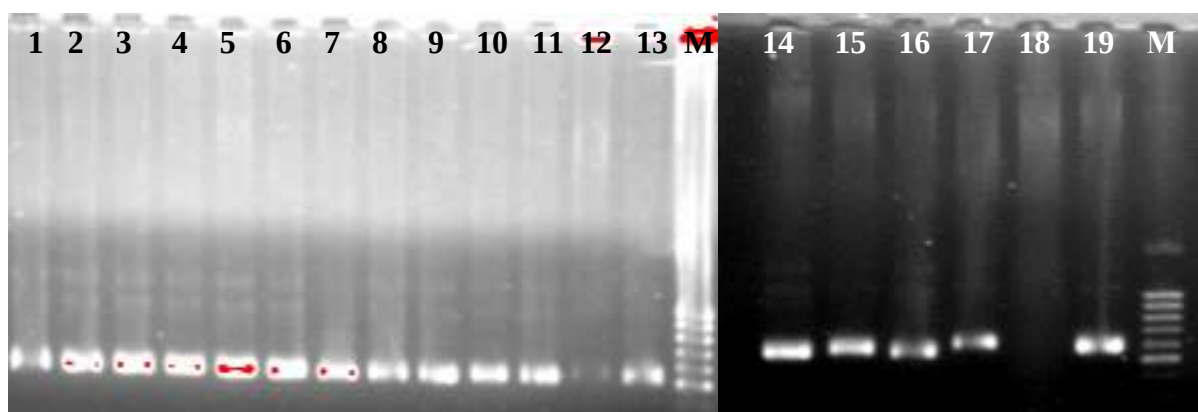
f- U127/UN127



g- FG1/LF127



h- FG1/LF127- V127/VU127



i- M78/Mu78

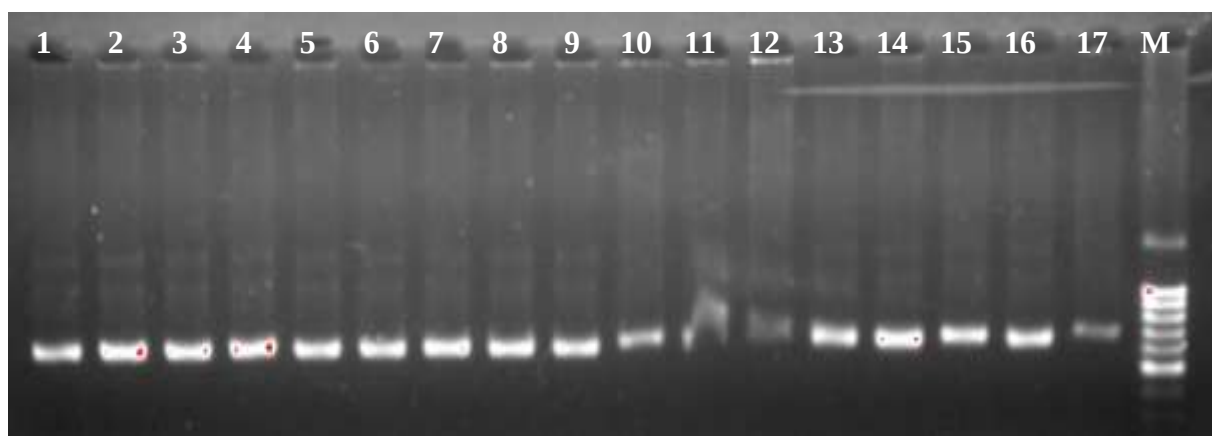


Рисунок 1 - Амплификация ДНК линии томатной линии, протестированная с маркерами генов устойчивости к фузариозу и вертициллезу: 1. Роз ст 0-1, 2. Роз ст 1-3, 3. Роз ст 2(2), 4. Роз ст 3(3), 5. Роз ст 4-431, 6. Роз ст 5(1), 7. Роз ст 6(3), 8. Роз St7(3), 9. Роз ст 9(121), 10. Роз ст 12(1), 11. Роз ст 13(2), 12. Роз ст 15(1), 13. Роз ст 16(3), 14. Роз ст 20(3), 15. Роз ст 22(3), 16. РБК1-251, 17. Клибка куба (КК), 18. 518-1133, 19. Роз ст 8-64, М – маркер молекулярного размера Gene Ruler 1 kb DNA Ladder Plus.

3-1-2 Наличие генов устойчивости к кладоспориозу, фитофторозу, бронзовости и нематодам, мучнистой росе, вирусу желтой курчавости листьев томата (TYLCV) и вирусу томатной мозаики у изученных линий томата

Одним из основных генов, определяющих устойчивость томата к кладоспориозу, является ген **Cf-5**, локализованный на коротком плече хромосомы 6 в области, связанной с локусом **Cf-2** (Dixon et al., 1998). При использовании праймеров **2-5CF/2-2CR** амплифицируются фрагменты ДНК различного размера, соответствующие локусам **Cf-2 (1600 п.н.)**, **Cf-5 (750 п.н.)** и **Cf-6 (550 п.н.)** (Grushetskaya et al., 2005).

В настоящем исследовании амплификация и электрофоретический анализ ДНК с использованием праймеров **2-5CF/2-2CR** выявили три фрагмента различного размера, один из которых соответствовал ожидаемому размеру 750 п.н. Ампликон размером 750 п.н. обнаружен у всех стерильных линий, за исключением линии **Роз St 8-64**, и отсутствовал у всех исследованных фертильных линий. Наличие фрагмента указанного размера позволяет предположить присутствие локуса **Cf-5** в геномах соответствующих стерильных линий (рис. 2j).

Амплификация с использованием праймеров **SSR128F/SSR128R** не выявила целевых фрагментов, ассоциированных с локусом устойчивости, в связи с чем данный маркер оказался неинформативным для исследованной коллекции линий томата (рис. 2i). Использование праймеров **SSR48F/SSR48R** потребовало дополнительной оптимизации условий ПЦР. Однако полученные результаты не позволили надежно интерпретировать характер амплификации и провести дифференциацию исследованных линий по локусу устойчивости к кладоспориозу (рис. 2е).

Соколова Е.А. и др. (2011) показали, что пары праймеров **R1-1400:76-F/R1-1400:76-R** и **R1-1205:76-F/R1-1205:6300-R** амплифицируют маркеры гена устойчивости к фитофторозу **R1** у томата, а пары **RT-R3a:RT-R3a-F/RT-R3a:RT-R3a-R** и **R3-1380:R3a-F/R3-1380:R3a-R** — маркеры

гена **R3a** картофеля. Ожидаемые размеры ампликонов составляют 1400 и 1205 п.н. для маркеров R1 и 1380 п.н. для маркера R3a соответственно.

В настоящей работе указанные маркеры были использованы для оценки возможного присутствия соответствующих генов устойчивости к фитофторозу в генотипах томата. При ПЦР-анализе 19 исследованных линий были выявлены ампликоны размером около 100 п.н., существенно отличающиеся от ожидаемых размеров диагностических фрагментов генов **R1** и **R3a** (рис. 2а, f). Полученные результаты не подтверждают наличие генов R1 и R3a в исследованных линиях.

Для идентификации устойчивости к вирусу бронзовости томата (TSWV) использовали несколько молекулярных маркеров, ассоциированных с геном **Sw-5**. R. Do Nascimento и др. (2009) показали, что пара праймеров **Sw421-1'/Sw421-2'** позволяет различать генотипы по размеру амплифицированного фрагмента: полоса размером 900 п.н. соответствует восприимчивому генотипу, тогда как полоса 940 п.н. — доминантному устойчивому генотипу; наличие обеих полос характерно для гетерозиготного состояния.

При анализе 19 исследованных линий с использованием пары **Sw421-1'/Sw421-2'** полоса размером 940 п.н. была обнаружена во всех линиях, за исключением фертильной линии **518-1133** (рис. 2d). Полученный результат свидетельствует о наличии у большинства исследованных линий аллеля, ассоциированного с устойчивостью к TSWV.

Другим маркером, использованным для идентификации гена **Sw-5**, была пара праймеров **ZUP641/ZUP642**, предложенная R. Langella и соавт. (2004). При ПЦР-анализе 19 исследованных линий у всех линий, за исключением фертильной линии 518-1133, был выявлен ампликон размером около 220 п.н. (рис. 2с). Поскольку в данном варианте анализа рестрикция продуктов ПЦР не проводилась, дифференциация соответствующих фрагментов не осуществлялась. По данным авторов метода, обработка продукта рестриктазой **MseI** при 37 °C позволяет разделить его на два фрагмента

размером 100 и 120 п.н. Поэтому полученные результаты позволяют предположить наличие соответствующего аллеля у 18 исследованных линий, однако окончательное определение зиготности требует проведения рестрикционного анализа.

Дополнительную оценку наличия устойчивого аллеля проводили с использованием праймеров **Sw5-f2/Sw5-r2**. При анализе продуктов ПЦР целевой фрагмент размером 541 п.н. отсутствовал только у линии **518-1133**. Наличие ампликона соответствующего размера в остальных линиях свидетельствует о присутствии последовательности, ассоциированной с устойчивым аллелем **Sw5b**.

Маркер на основе праймеров **Sw421-1/Sw421-2** был выявлен у растений всех исследованных линий, за исключением линий **Роз St 12(1)** и **518-1133**. В линии «**Клибка куба**» вместо ожидаемого фрагмента размером 940 п.н. выявлен ампликон размером около 1000 п.н. (рис. 2g, h). Таким образом, результаты анализа различных маркеров гена Sw-5 в целом согласуются между собой. Вместе с тем для линий **Роз St 12(1)** и «**Клибка куба**» требуется дополнительная проверка, поскольку результаты отдельных маркерных систем не совпадают. В частности, один из маркеров указывает на присутствие последовательности, ассоциированной с устойчивым аллелем **Sw5b**, тогда как другой не подтверждает ее наличие.

Из использованных в настоящем исследовании маркеров наиболее информативными для выявления устойчивости, ассоциированной с геном **Sw-5**, оказались праймеры **Sw5-f2/Sw5-r2**. Их применение показало отсутствие соответствующего устойчивого аллеля только у фертильной линии **518-1133**, тогда как у остальных 18 линий выявлен фрагмент размером 541 п.н. Полученные данные свидетельствуют о наличии последовательностей, ассоциированных с устойчивыми аллелями **Sw5-a** и **Sw5-b**, в исследованном материале (рис. 2g, h).

Генетическое и физическое картирование локуса **Mi-2** показало его локализацию на коротком плече хромосомы 6 вблизи кластера **Cf-2/Cf-**

5 (Ammiraju et al., 2003). Аджиева В.Ф. и др. (2007) показали, что пара праймеров **Mi23F/Mi23R** позволяет дифференцировать аллельное состояние гена устойчивости к галловым нематодам. При этом ампликон размером **380 п.н.** соответствует устойчивому аллелю, тогда как фрагмент размером **430 п.н.** — восприимчивому аллелю.

В настоящем исследовании с помощью SCAR-маркера **Mi23** анализировали наличие аллеля, ассоциированного с устойчивостью к галловым нематодам. Гетерозиготное состояние выявлено у растений линий **Poz St 2(2)** и **518-1133**. Линии **Poz St 6(3)** и **Poz St 22(3)** характеризовались восприимчивым гомозиготным состоянием. У линий **Poz St 15(1)** и **Poz St 8-64** диагностический маркер не обнаружен. Остальные исследованные линии характеризовались устойчивым гомозиготным состоянием (рис. 2b).

Гены устойчивости к мучнистой росе **Ol-1** и **Ol-3** картированы в сходных участках хромосомы 6. Результаты теста на аллелизм свидетельствуют о том, что **Ol-1** и **Ol-3** являются аллельными либо тесно сцепленными локусами; генетическое расстояние между ними составляет около 2 сМ. Таким образом, выявление локуса **Ol-1** может рассматриваться как косвенное свидетельство присутствия локуса **Ol-3**. Для идентификации локуса **Ol-1** использовали пару праймеров **SCAE16F/SCAE16R**. Среди 16 исследованных стерильных линий ампликон, свидетельствующий о наличии локуса **Ol-1**, отсутствовал только у линии **Poz St 15(1)** (рис. 2m). Следовательно, у остальных стерильных линий наличие маркера **Ol-1** позволяет предположить присутствие также локуса **Ol-3**. Фертильные линии «**Клибка куба**» (**КК**) и **518-1133** не имели соответствующих маркеров, тогда как фертильная линия **РБК** характеризовалась наличием обоих локусов.

В настоящее время известны четыре основных локуса устойчивости томата к вирусу желтой курчавости листьев томата (TYLCV): **Ty-1**, **Ty-2**, **Ty-3** и **Ty-4** (Ji et al., 2009b). Hanson et al. (2016) показали, что ген **Ty-3** способен снижать выраженность симптомов заболевания, однако не предотвращает

вирусную инфекцию. Согласно результатам этих исследований, сочетание Ту-3 и Ту-2 также не обеспечивало полного предотвращения инфекции. В связи с этим перспективным направлением рассматривается использование пирамид устойчивости, включающих различные комбинации генов, например Ту-3, Ту-5 и Ту-2.

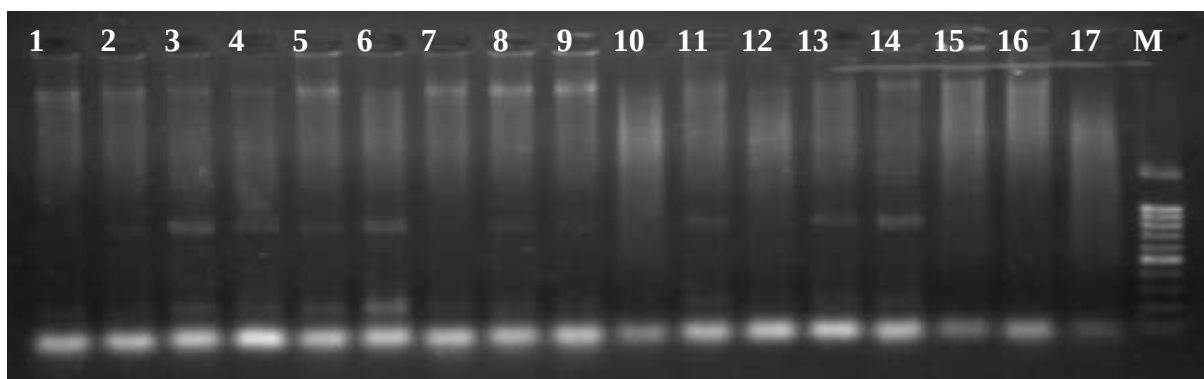
Для определения наличия генов **Ту-3а** и **Ту-2** в исследованных линиях использовали пары праймеров **FLUW-25F/FLUW-25R** и **P1-16F/P1-16R** соответственно. Результаты ПЦР-анализа показали наличие ампликонов, соответствующих генам Ту-3а и Ту-2, у всех 16 исследованных стерильных линий. В то же время у фертильных линий «Клибка куба» (КК) и 518-1133 ампликоны ожидаемого размера не выявлены, что указывает на отсутствие у этих линий соответствующих маркерных последовательностей генов **Ту-3а** и **Ту-2** (рис. 2к, л).

Для идентификации генов устойчивости к вирусу томатной мозаики использовали молекулярные маркеры на основе пар праймеров **PrRuG086/PrRuG151** и **PrRuG248/PrRuG249**. Амплификация ДНК с праймерами PrRuG086 и PrRuG151 с последующей обработкой продуктов ПЦР рестриктазой **BfrI** позволяет выявлять маркерные последовательности генов **tm-2**, **Tm-2** и **Tm-2²** и дифференцировать генотипы растений по соответствующим аллелям.

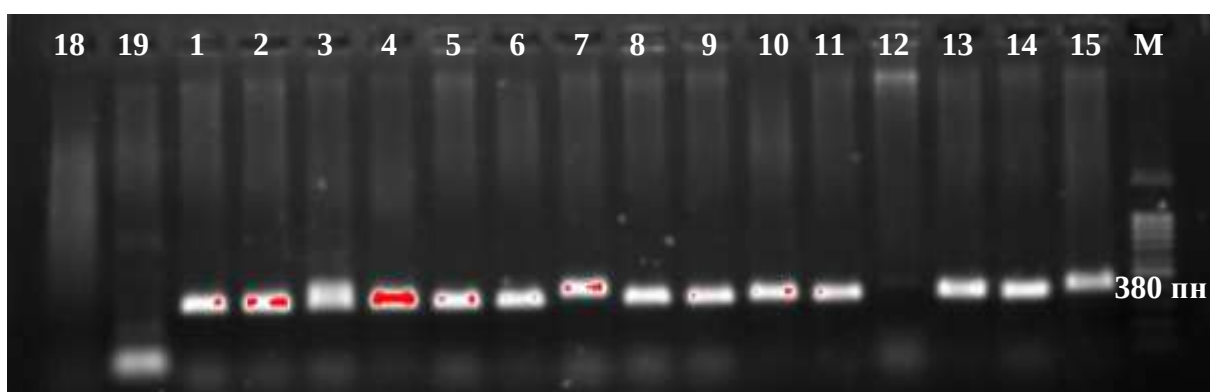
В настоящем исследовании продукты ПЦР, полученные с использованием пар праймеров **PrRuG151 / PrRuG086** и **PrRuG248/ PrRuG249**, подвергали рестрикционному анализу с использованием эндонуклеазы **BfrI**. В результате электрофоретического анализа рестриктов были выявлены фрагменты размером **850, 560 и 100 п.н.** (рис. 2о). Полученный профиль рестрикции позволяет дифференцировать исследованные линии по маркерным последовательностям, ассоциированным с генами устойчивости к вирусу томатной мозаики. Генотипы Роз ст5(1) и Роз ст 9(121) являются единственными носителями трех полос. Это свидетельствует о наличии гена **Tm-2** в этих генотипах. Мы также отмечаем наличие гена **tm-2** у некоторых

генотипов, таких как Роз Ст 0-1, Роз Ст 1-3, Роз Ст 2(2), Роз Ст 16(3) и Роз ст 20(3).

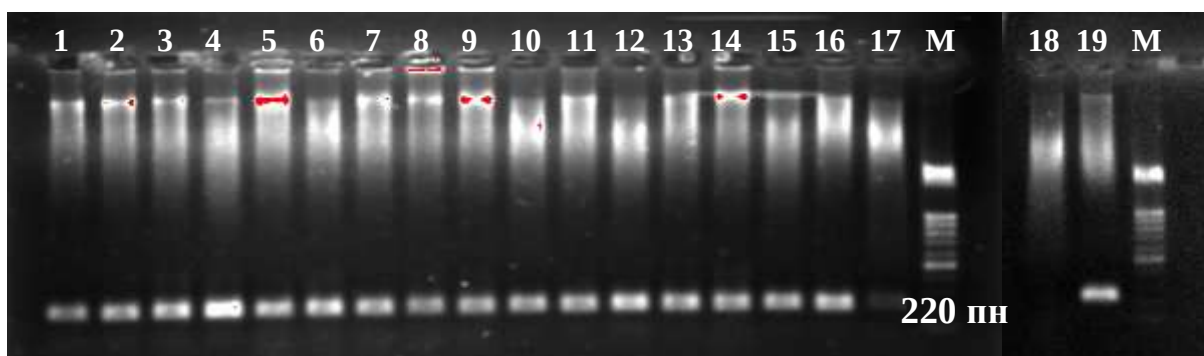
a- R1-120576F/R1-120563R



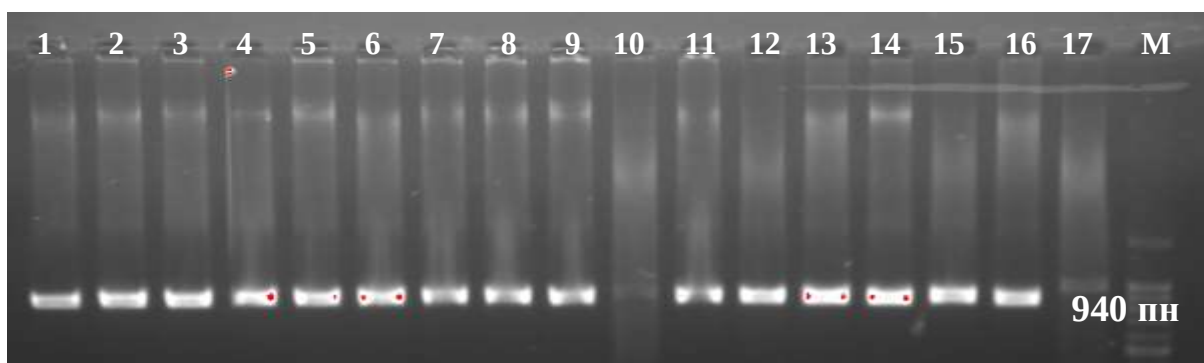
b- Mi23 F/ Mi23 R



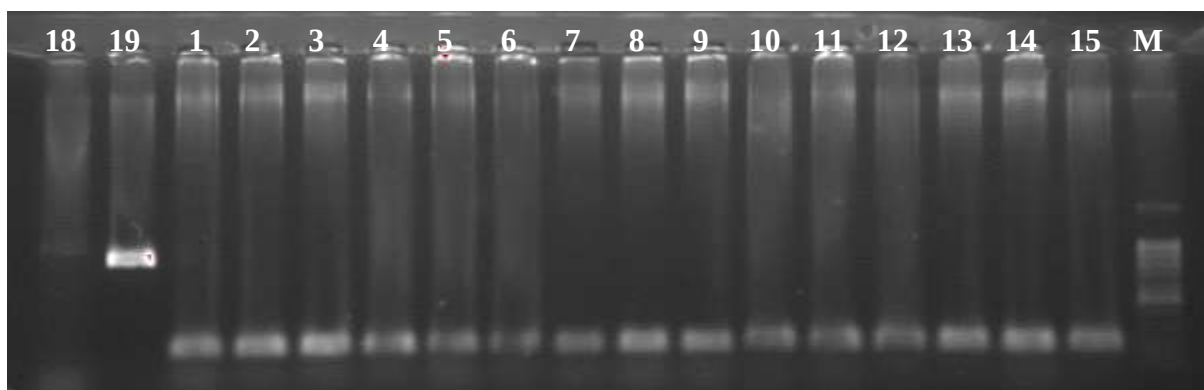
c- ZUP641/ZUP642



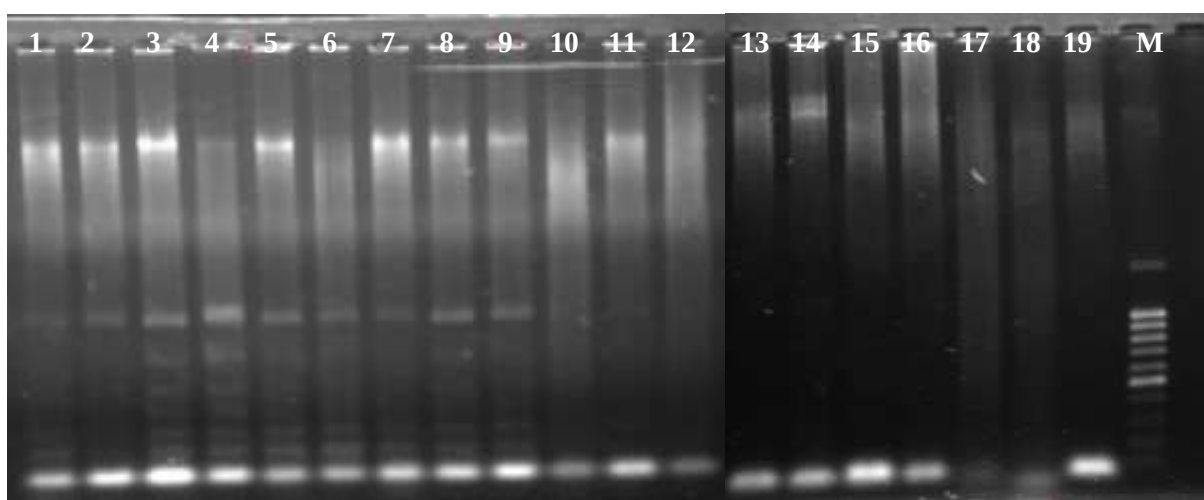
d- SW-421/SW-422



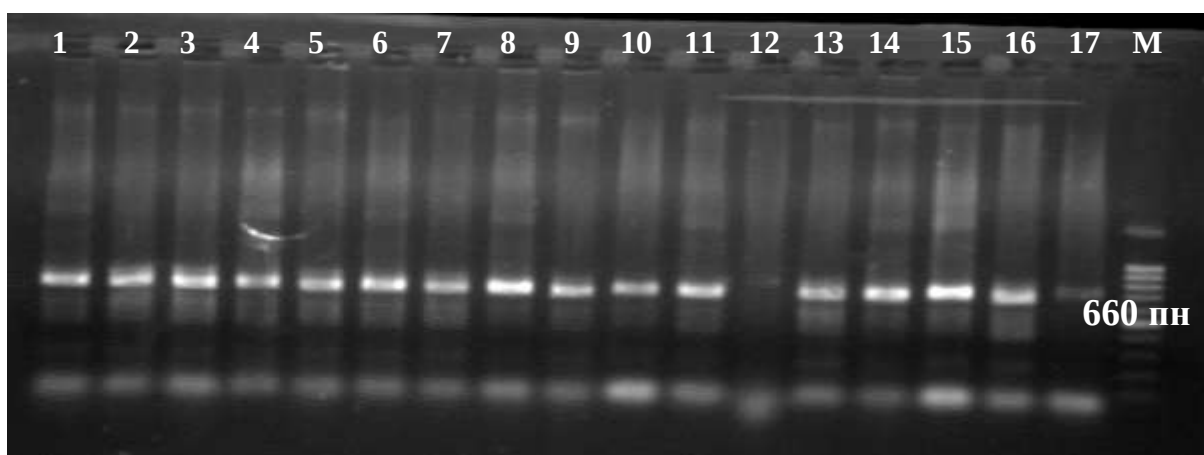
e- SSR48F/SSR48R



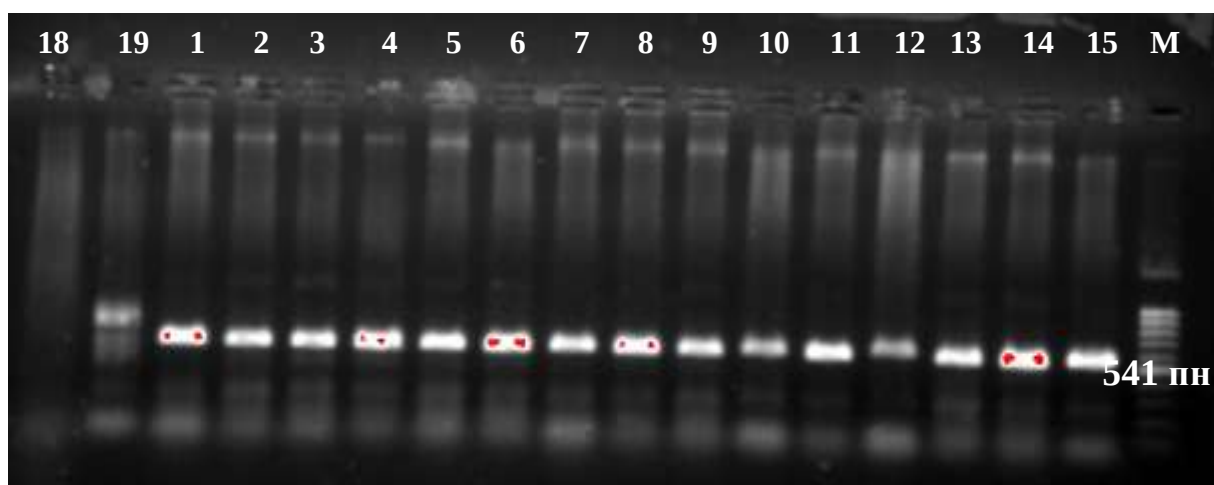
f- RTR3aF/ RTR3aR



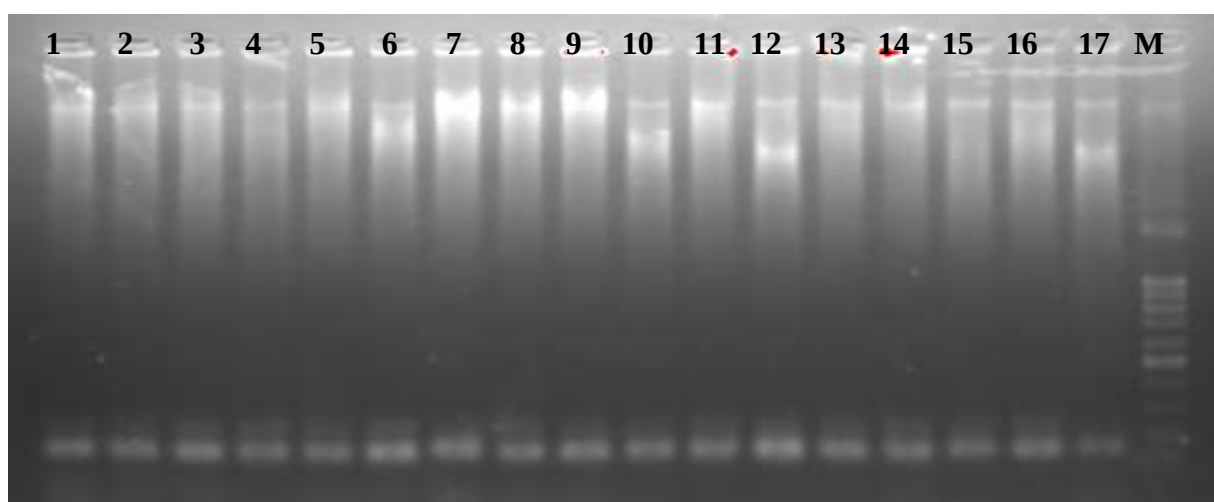
g- Sw5-F1/Sw5-R1



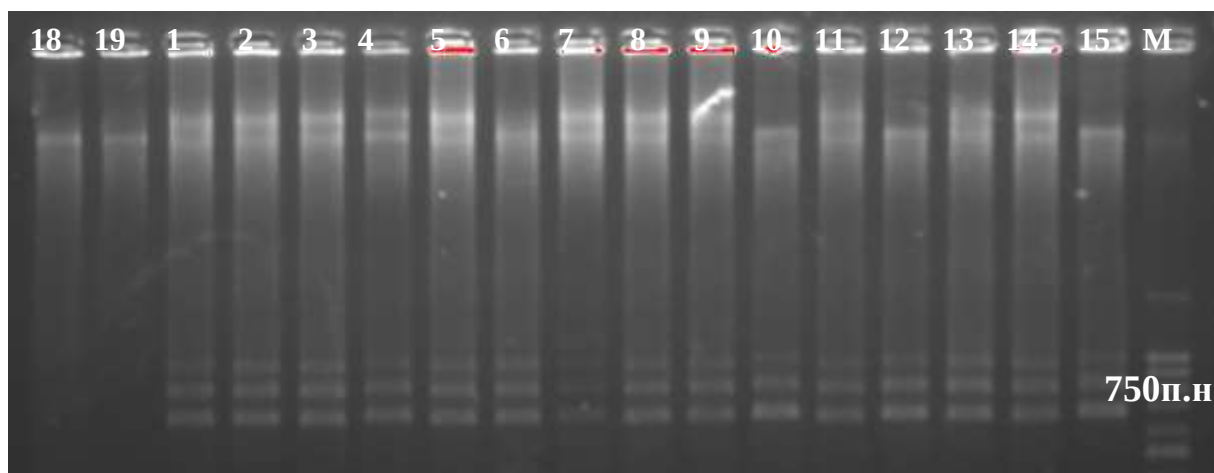
h- Sw5-F2/Sw5-R2



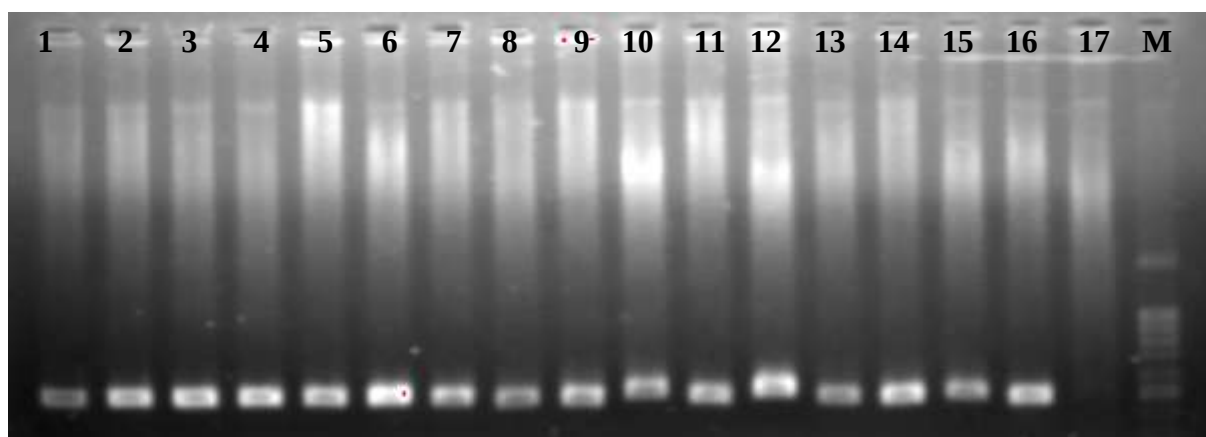
i- SSR128F/SSR128R



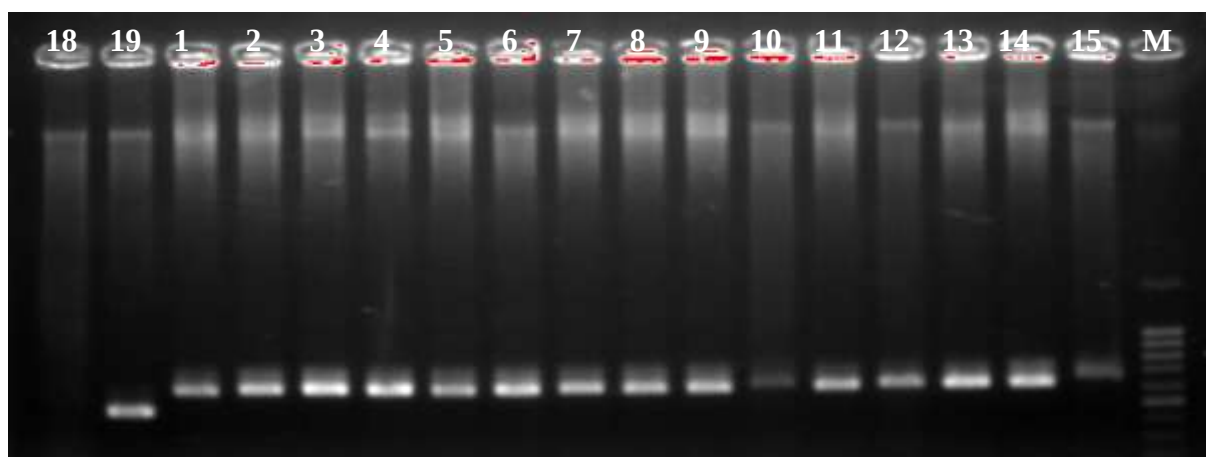
j- 2-5CF /2-2CR



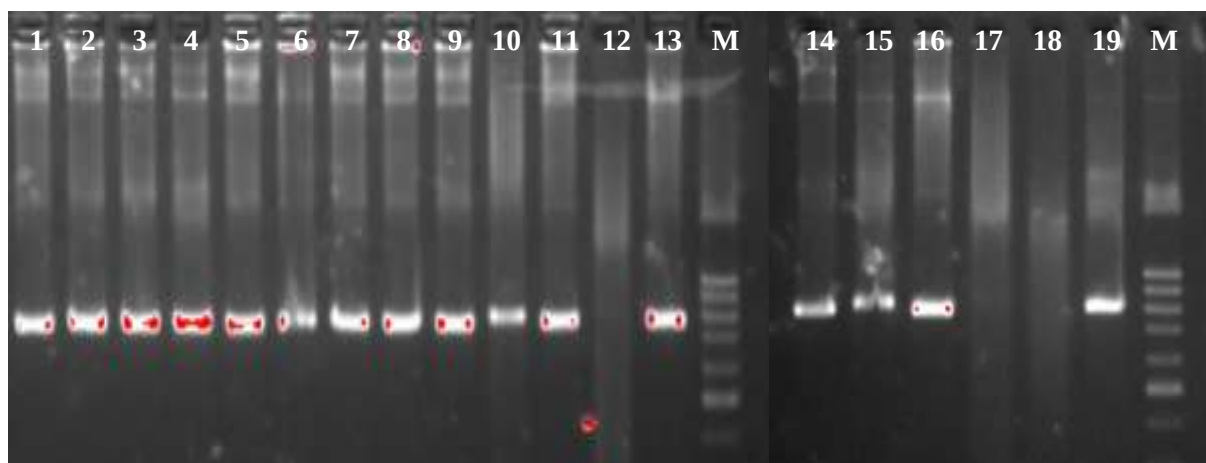
k- FLUW-25F/FLUW25R



l- P1-16F/P1-16R



m- SCAE 16F/SCAE16R



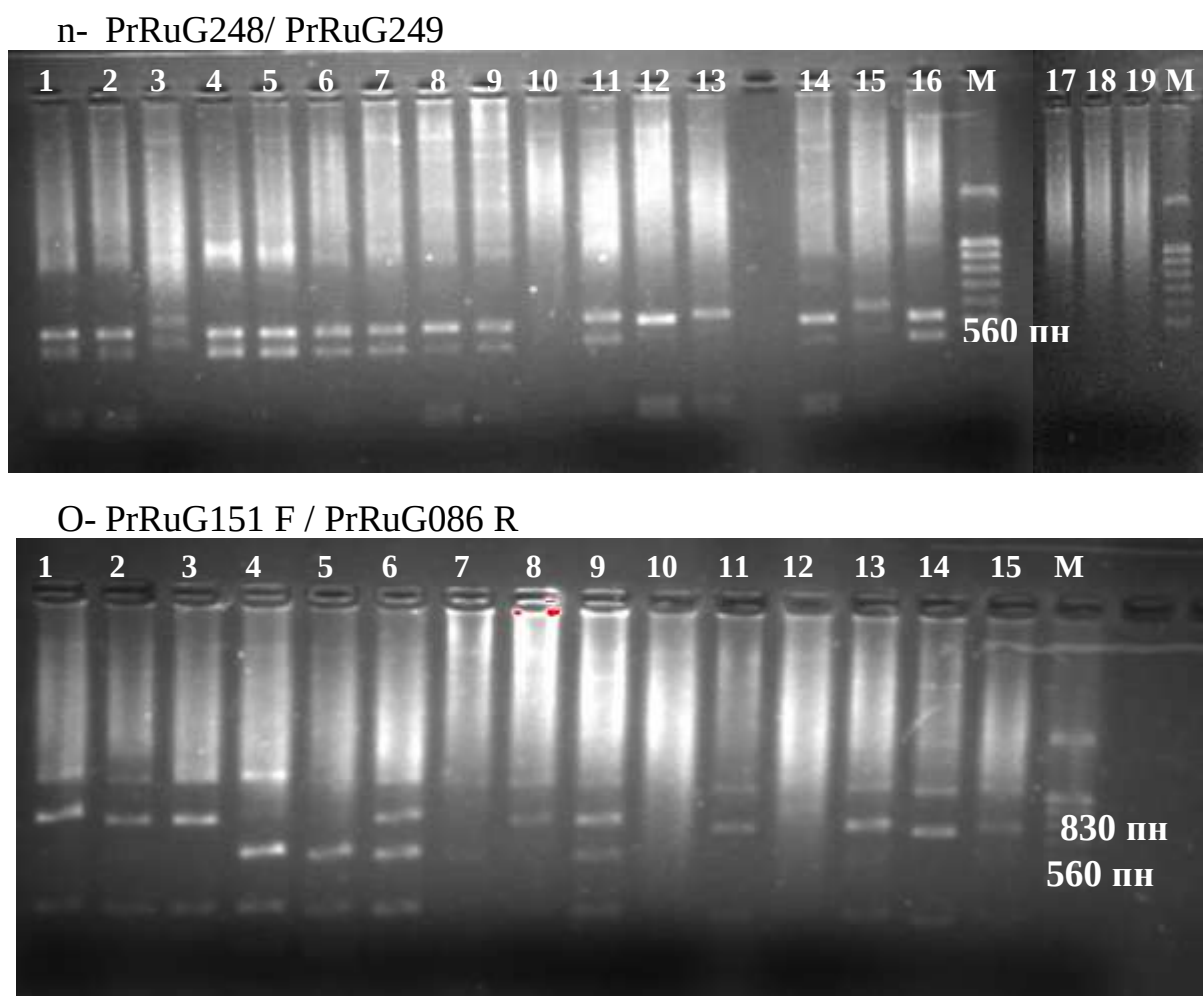


Рисунок 2 — Электрофоретический анализ продуктов амплификации ДНК линий томата с использованием молекулярных маркеров генов устойчивости к кладоспориозу, фитофторозу, бронзовости, вирусу томатной мозаики и галловым нематодам. М — маркер молекулярной массы 1 kb DNA Ladder (BRL); 1 — Poz St 0-1; 2 — Poz St 1-3; 3 — Poz St 2(2); 4 — Poz St 3(3); 5 — Poz St 4-431; 6 — Poz St 5(1); 7 — Poz St 6(3); 8 — Poz St 7(3); 9 — Poz St 9(121); 10 — Poz St 12(1); 11 — Poz St 13(2); 12 — Poz St 15(1); 13 — Poz St 16(3); 14 — Poz St 20(3); 15 — Poz St 22(3); 16 — РБК1-251; 17 — «Клибка куба» (КК); 18 — 518-1133; 19 — Poz St 8-64.

Большинство молекулярных маркеров, включая RFLP, AFLP, RAPD, SCAR, CAPS и SNP, ассоциированных с генами устойчивости к различным

заболеваниям, идентифицированы и успешно используются в селекции томата на устойчивость к патогенам (Foolad and Sharma, 2005; Foolad, 2007).

Для выявления гена устойчивости к фузариозному увяданию I2 в исследованных линиях использовали кодоминантную пару маркеров U78/UP78. По результатам ПЦР-амплификации установлено, что из 16 исследованных стерильных линий 14 характеризовались гетерозиготным, а 2 — гомозиготным состоянием по данному локусу.

Куклев и др. (2007) установили наличие не менее семи генов, гомологичных гену I2 и ассоциированных с устойчивостью томата к фузариозному увяданию. Четыре из них — I2, I2C-1, I2C-2 и I2C-5 — были идентифицированы и охарактеризованы. Пара праймеров U78/UP78 амплифицирует один из гомологов гена I2 — I2C-1, выявленный у устойчивых генотипов и ассоциированный с частичной устойчивостью к фузариозному увяданию. В свою очередь, пара праймеров U78/UN78 амплифицирует другой гомолог гена I2 — I2-J2C-1, также выявленный у устойчивых генотипов и связанный с частичной устойчивостью к фузариозному увяданию.

Ген I2 длительное время рассматривался как один из основных генов, обеспечивающих устойчивость томата к фузариозному увяданию. В то же время в 2024 г. Šimková и др. сообщили об идентификации нового гена устойчивости I-7, обеспечивающего устойчивость томата к расам 1, 2 и 3 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Выявление новых генов устойчивости расширяет возможности генетического обеспечения устойчивости томата к фузариозному увяданию и их последующего использования в селекционном процессе.

Генетические факторы устойчивости к вертициллезному увяданию Ve выявлены среди исследованных линий томата. Куклев М.Ю. (2007) показал, что пары молекулярных маркеров VVF1/VVR1, VVF2/VVR2 и VF/VR являются кодоминантными и могут использоваться для идентификации локусов, ассоциированных с устойчивостью к вертициллезному увяданию.

В настоящем исследовании при проведении ПЦР-амплификации с использованием пары праймеров VF/VR у исследованных линий выявлен ампликон размером 200 п.н., что соответствует результатам, полученным Куклевым и др. (2007). ПЦР-анализ показал наличие маркерных последовательностей, ассоциированных с генами Ve1 и Ve2, у 16 стерильных линий и одной фертильной линии — 518-1133. По результатам маркерного анализа соответствующие генотипы характеризовались гомозиготным состоянием по локусу устойчивости.

Одним из основных генов, используемых в современной селекции томата на устойчивость к кладоспориозу, является Cf-5. Ген Cf-5 локализован на коротком плече хромосомы 6 томата в области кластера генов устойчивости, включающего локус Cf-2 (Dixon et al., 1996; Dixon et al., 1998). Наблюдение полосы размером около 800 п.н. указывает на присутствие маркера гена Cf-5 в тестируемых линиях. Эти результаты подтверждают наблюдения Грушецкой и соавт. в 2007 году.

Пары праймеров R1-1400:76-F/R1-1400:76-R и R1-1205:76-F/R1-1205:6300-R амплифицируют ген R1 устойчивости к фитофторозу и пары праймеров RT-R3a:RT-R3a-F/RT-R3a: RT - R3a и R3-1380:R3a-F/R3-1380:R3a-R амплифицируют ген R3a устойчивости к фитофторозу у картофеля, проявляя ампликоны размером 1400 и 1205 п.н. для гена R1 и 1380 п.н. для гена R3a устойчивости к фитофторозу (Соколова и др., 2011). В реакциях с образцами ДНК линий томата, содержащих другие локусы устойчивости, а также с ДНК восприимчивых форм томата продуктов амплификации получено не было. Полученные ампликоны не соответствовали ожидаемым размерам фрагментов, характерным для локусов **R1** и **R3a**. Следовательно, результаты ПЦР-анализа не подтверждают наличие в геномах исследованных линий томата маркерных последовательностей, ассоциированных с генами **R1** и **R3a**, обуславливающими устойчивость к фитофторозу.

Пара праймеров **Sw421-1'**/**Sw421-2'** позволяет дифференцировать генотипы томата по состоянию локуса **Sw-5**, ассоциированного с

устойчивостью к вирусу бронзовости томата (TSWV). После ПЦР-амплификации у восприимчивого генотипа **Sw-5+/Sw-5+** выявляется фрагмент размером **900 п.н.**, тогда как у гомозиготного устойчивого генотипа **Sw-5/Sw-5** — фрагмент размером **940 п.н.** Наличие одновременно двух фрагментов размером 900 и 940 п.н. соответствует гетерозиготному состоянию **Sw-5/Sw-5+**.

Аналогичные результаты были получены **Do Nascimento et al. (2009)**, что подтверждает возможность использования данной пары праймеров для молекулярной идентификации аллельного состояния локуса **Sw-5** и выявления генотипов, ассоциированных с устойчивостью к TSWV.

R. Langella et al., (2004) использовали пару маркеров **ZUP641/ZUP642** для амплификации гена **Sw-5** устойчивости к бронзовости. Они наблюдали две полосы размером 100 п.н. и 120 п.н. Полоса размером 120 п.н. свидетельствует о наличии доминантного аллеля генов устойчивости, а полоса размером 100 п.н. — признак наличия рецессивного аллеля. **Stevens et al. (1996)** дополнительно картировали RAPD-маркер 421R, связанный с **Sw-5** на расстоянии 1 см. Вероятно, это ближайший маркер к гену **sw-5**, он расположен на хромосоме 9. Пять аллелей гена **Sw-5** — **Sw5-a, Sw5-b, Sw5-c, Sw5-d и Sw5-e**, а также семь его гомологов, локализованных на хромосомах 9 и 12, были идентифицированы и клонированы (**Brommonschenkel and Tanksley, 1997; Brommonschenkel et al., 2000**). Среди них **Sw5-b** является функциональным аллелем, придающим устойчивость к бронзовости. **Shi et al., (2011)** показали, что пары праймеров **Sw5-f1/r1** и **Sw5-f2/r2** амплифицируют аллели **Sw5-a** и **Sw5-b** гена устойчивости к бронзовости томата **Sw5**. Действительно, пара праймеров **Sw5-f2/r2** амплифицирует только устойчивый аллель в локусе гена **Sw-5**, а не чувствительный аллель в том же локусе или других локусах, тогда как пара праймеров **Sw5-f1/r1** амплифицирует как резистентные, так и чувствительные аллели (**Shi et al., 2011**).

Пары праймеров **PrRuG086/PrRuG151** позволяют амплифицировать маркерные последовательности, ассоциированные с генами устойчивости к

вирусу томатной мозаики **tm-2**, **Tm-2** и **Tm-22**. Последующая обработка продуктов ПЦР рестрикционными эндонуклеазами **HpaI** и **BfrI** позволяет дифференцировать генотипы растений по состоянию соответствующих локусов (Lanfermeijer et al., 2003).

В настоящем исследовании при анализе продуктов ПЦР был выявлен фрагмент, размер которого отличался от ожидаемого для диагностических маркеров указанных генов. Полученный результат свидетельствует об отсутствии в исследованных образцах маркерных последовательностей, ассоциированных с локусами устойчивости к вирусу томатной мозаики.

3-1-3 Изучение и дифференциация стерильных и фертильных линий томата по числу генов устойчивости к болезням.

Проведённый молекулярно-генетический анализ позволил провести дифференциацию исследованных стерильных и фертильных линий томата по наличию маркерных последовательностей, ассоциированных с генами устойчивости к основным заболеваниям и вредителям.

Стерильные линии томата Поз St 0-1, Поз St 1-3, Поз St 2(2), Поз St 3(3), Поз St 4-431, Поз St 5(1), Поз St 6(3), Поз St 7(3), Поз St 8-64, Поз St 9(121), Поз St 12(1), Поз St 13(2), Поз St 15(1), Поз St 16(3), Поз St 20(3) и Поз St 22(3), а также фертильная линия РБК1-251 характеризовались наличием маркерных последовательностей, ассоциированных с генами I2-I2C-1 и I2-J2C-1, обуславливающими устойчивость к фузариозному увяданию, Ve1 и Ve2, связанными с устойчивостью к вертициллезному увяданию, Cf-2 и Cf-5, ассоциированными с устойчивостью к кладоспориозу, Sw-5, связанным с устойчивостью к вирусу бронзовости томата, Tu-3a и Tu-2, ассоциированными с устойчивостью к вирусу желтой курчавости листьев томата, а также Ol-1 и Ol-3, связанными с устойчивостью к мучнистой росе (табл. 9).

Фертильная линия томата «Клибка куба» (КК) характеризовалась наличием маркерных последовательностей, ассоциированных с генами I2-I2C-1 и I2-J2C-1, связанными с устойчивостью к фузариозному увяданию, Sw-5,

ассоциированным с устойчивостью к вирусу бронзовости томата, и Mi-23, связанным с устойчивостью к галловым нематодам. В отличие от остальных исследованных линий, фертильная линия 518-1133 характеризовалась наличием только маркерной последовательности, ассоциированной с геном Mi-23, связанным с устойчивостью к галловым нематодам.

Таким образом, по результатам молекулярно-маркерного анализа стерильные линии характеризовались более широким набором маркерных последовательностей генов устойчивости к различным заболеваниям по сравнению с большинством исследованных фертильных линий. Наиболее сходным со стерильными линиями по спектру выявленных маркеров оказался генотип РБК1-251, тогда как линии «Клибка куба» и 518-1133 характеризовались значительно меньшим числом выявленных маркерных локусов (табл. 9).

Таблица 9- Выявление наличия генов I2-I2C-1 и I2-J2C-1, Ve 1 и Ve 2, Cf 2, Cf 5, ph3, Sw-5, Ty-3a, Ty-2, Ol-1 и Ol-2, Tm-2², и Mi-23 по устойчивости к разным фитопатогенам томата в каждой из линии коллекции

Заболевания	Стерильные и Фертильные линии																				
	гены	маркеры	Роз ст 0-1	Роз ст 1-3	Роз ст2(2)	Роз ст3(3)	Роз ст 4-431	Роз ст5(1)	Роз ст6(3)	Роз ст7(3)	Роз ст 9(121)	Роз ст 12(1)	Роз ст 13(2)	Роз ст 15(1)	Роз ст 16(3)	Роз ст 20(3)	Роз ст 22(3)	РБК1-251	КК	518-1133	Роз ст 8-64
Фузариоз	I2	LR1/LR2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		V127/VU127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		C1/C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		FG1/LF127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		LF78/LF79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		F7/FU7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		L79/LU79	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		M78/MU78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		U127/UN127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Вертициллез	I2-I2C-1	U78/UN78	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	I2-J2C-1	U78/UP78	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TSWV	Ve1	VVF1/VVR1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	Ve2	VVF2/VVR2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
	Ve	VF/VR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Кладоспориоз	Sw-5	SW-421/SW-422	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		ZUP641/ZUP642	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Sw5-F1/Sw5-R1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
		Sw5-F2/Sw5-R2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Нематоды	Cf2 и Cf5	SSR128F/SSR128R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
		2-5CF /2-2CR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
	Cf6	SSR48F/SSR48R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Фитофтороз	Mi-23	Mi23 F/ Mi23 R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
TYLCV	R1	R1-120576F/R1-120563R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	R3a	R3-1380R3aF/R3-1380R3aR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		RTR3aF/ RTR3aR	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		RTR1-140076F/ RTR1-140076R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ph3	TG328F/TG328R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ToBRFV	Ty-3a	FLUW-25F/FLUW-25 R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
	Ty-2	P1-16 F/P1-16 R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Мучнистая роса	Tm-2 ²	PrRuG086 и PrRuG151	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Ol-1 и Ol-3	SCAE16F/SCAE16R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+

3-1-3 Оптимизирование условия молекулярно-генетического скрининга линий томата на гены устойчивости/восприимчивости к фузариозу и вертициллезу.

В целях оптимизации условий проведения ПЦР были испытаны различные варианты реакционных смесей. В состав каждой реакционной смеси входили $MgCl_2$ в концентрации 25 мМ, dNTP — 2 мМ, праймеры — 2 мМ и ДНК-матрица в количестве 50–100 нг. Всего было протестировано шесть вариантов реакционных смесей, обозначенных номерами 1–6 (табл. 8), которые различались между собой объемным соотношением компонентов. На реакционной смеси 6 отмечается амплификация маркеров генов устойчивости к фузариозу и вертициллезу, чего нет на реакционных смесях 2 и 3. Что касается условий проведения ПЦР, то пробирки Эппендорф, содержащие реакционные смеси помещали в термоциклер. Эту реакционную смесь подвергали ПЦР в трех разных пронумерованных условиях: условия 1, условия 2 и условия 3 (табл. 7).

Из трех условий только условия 1 были эффективны для лучшей амплификации 11 маркеров гена I2 устойчивости к фузариозному увяданию и 3 маркера гена Ve устойчивости к вертициллезу. Условие 1 включало начальную денатурацию ДНК при температуре 94 °С в течение 5 мин, после чего проводили 40 циклов, каждый из которых состоял из денатурации при 95 °С в течение 30 с, отжига праймеров при 55 °С в течение 30 с и элонгации при 72 °С в течение 1 мин. Завершали реакцию стадией финальной элонгации при 72 °С в течение 5 мин (табл. 7).

Обратите внимание на амплификацию праймеров для маркеров генов устойчивости к фузариозу и вертициллезу в реакционной смеси 6, чего нет в реакционных смесях 2 и 3. Тогда реакционная смесь 6 является лучшей смесью для проведения ПЦР в случае устойчивости к фузариозу и вертициллезу. генные маркеры; но совершенно необходимо, чтобы эта ПЦР проводилась в условиях, предусмотренных в условии 1.

3-1-4 Оптимизирование условия молекулярно-генетического скрининга линий томата на гены устойчивости к кладоспориозу, фитофторозу, бронзовости, нематодам, вирус желтой курчавости листового и мучнистая роса

Пары праймеров 2-5CF/2-2CR, SSR48F/SSR48R и SSR128F/SSR128R маркеров гена устойчивости к кладоспориозу Cf-5, Cf-2 и Cf-6 позволили провести ПЦР-амплификацию гена Cf. Что касается пары праймеров 2-5CF/2-2CR, наилучшая реакционная смесь позволила провести ПЦР-амплификацию этого маркера и реакционная смесь 2 в сочетании с условием проведения ПЦР № 2. Что касается пар SSR48F/SSR48R и SSR128F/SSR128R, наилучшей реакционной смесью, которая позволила провести ПЦР-амплификацию этих маркеров, является реакционная смесь 1 в сочетании с условием проведения ПЦР № 2 (Приложение I).

Пара праймеров TG328F/TG328R маркера гена Ph-3 устойчивости к фитофторозу позволила провести ПЦР-амплификацию гена ph3. Наилучшей реакционной смесью, допускающей данную ПЦР-амплификацию, является реакционная смесь 2 в сочетании с условиями для проведения ПЦР № 2 (Приложение I).

Отмечаем амплификацию маркеров генов Sw-5, устойчивости к томата благодаря праймерам Sw5-f1/Sw5-r1 и Sw5-f2/Sw5-r2 на реакционной смеси 4 и при проведении ПЦР. с условиями проведения ПЦР, предложенными (Shi *et al.*, 2011) (Приложение I).

Пары праймеров Sw-421-1/Sw-421-2 амплифицировали маркер гена Sw-5 на реакционной смеси 1 (табл. 8). Лучшие результаты получаются при проведении ПЦР с условиями проведения ПЦР № 2 (табл. 7).

Что касается пары маркеров (ZUP641/ZUP642), то наиболее подходящей реакционной смесью для проведения ПЦР-амплификации является реакционная смесь 5 (табл. 8). Лучшие результаты получаются при проведении ПЦР с условиями проведения ПЦР № 2 (Приложение I).

Когда реакционная смесь 4 сочетается с условиями проведения ПЦР, описанными Shi et al., (2011), полученные результаты намного лучше. То же самое верно для реакционных смесей 5 и 1, которые, как только они будут объединены соответственно с условиями проведения ПЦР R. Langella al., (2015) и условиями проведения ПЦР 2, которые мы предложили (Приложение I).

Наилучшей реакционной смесью, позволяющей проводить ПЦР-амплификацию гена устойчивости к нематодам Mi-23 с использованием пары праймеров Mi23F/Mi23R, является реакционная смесь 6 в сочетании с условием проведения ПЦР № 6 (Приложение I).

Пары праймеров FLUW-25F/FLUW-25R и P1-16F/P1-16R, специфичные к маркерным последовательностям генов устойчивости Ty-3a и Ty-2 соответственно, позволили провести ПЦР-амплификацию и выявить наличие соответствующих генов, ассоциированных с устойчивостью томата к вирусу желтой курчавости листьев томата (TYLCV). Наилучшей реакционной смесью, допускающей данную ПЦР-амплификацию, является реакционная смесь 2 в сочетании с условиями для проведения ПЦР № 2 (Приложение I).

Пары праймеров SCAE 16F/SCAE16R маркера гена O1 устойчивости к мучнистой росе позволили провести ПЦР-амплификацию этого маркера в линиях томата. Наилучшей реакционной смесью, позволяющей проводить ПЦР-амплификацию этого маркера, является реакционная смесь 2 в сочетании с условием проведения ПЦР № 2 (Приложение I).

3-2 Изучение гибридов, комбинационной способности стерильных и фертильных линий по основным хозяйственным признакам

3-2-1 Число листьев до первого соцветия гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий

В 2022 г. в условиях защищённого грунта у гибридных комбинаций число листьев до первого соцветия было относительно небольшим и

варьировало от 6 до 9 шт., при среднем значении по совокупности изученных комбинаций 7,46 шт. Наименьшее число листьев (6 шт.) имеют 6 гибридных комбинаций, т.е. 15% гибридов, по сути это гибриды 4, 14, 24, 26, 33 и 36. У гибридов, используемых в качестве стандарта, число листьев до первого соцветия составляет 9 шт. У стандартного гибрида F₁ Мей Шуай число листьев до первого соцветия составляло 9 шт. У 87,5 % изученных гибридных комбинаций данный показатель был ниже, чем у стандартного гибрида, что свидетельствует о более раннем формировании первого соцветия и, соответственно, о более высокой скороспелости этих комбинаций.

Дисперсионный анализ комбинационной способности по признаку «число листьев до первого соцветия» показал наличие статистически значимых различий между родительскими линиями по эффектам общей комбинационной способности (ОКС), а также между гибридными комбинациями по эффектам специфической комбинационной способности (СКС).

Анализ эффектов ОКС стерильных материнских линий в 2022 г. показал, что наиболее высокие положительные значения данного показателя отмечены у линий Роз St (12)4 ($g_i = 0,96$ шт.), Роз St 4-432 ($g_i = 1,31$ шт.) и Роз St 9-1 ($g_i = 0,89$ шт.). Наиболее выраженные отрицательные эффекты ОКС выявлены у линий Роз St (0-12) ($g_i = -0,73$ шт.), Роз St 6-322 ($g_i = -0,87$ шт.) и Роз St 9-12 2017 ($g_i = -0,92$ шт.).

Среди фертильных родительских линий наиболее высокие положительные значения эффекта ОКС отмечены у РБК1-251 ($g_i = 5,07$ шт.), «Клибка куба» ($g_i = 4,86$ шт.) и 518-1133 ($g_i = 4,64$ шт.) (табл. 10). Эффекты СКС гибридных комбинаций колебались в пределах от -1,19 шт. (Роз ст3-23 x РБК1-251) до 1,47 шт. (Роз ст (12)4 x Клибка куба). Наименьший эффект СКС отмечен в комбинациях Роз ст 9-1 2017 x Клибка куба ($s_{ij} = -1,41$ шт.), Роз ст3-23 x РБК1-251, Роз ст 3-11 x Клибка куба ($s_{ij} = -1,20$ шт.) и Роз ст (12)4 x РБК1-251 ($s_{ij} = -1,14$ шт.). Гибриды с наибольшим эффектом СКС были Клибка куба

х Роз ст (12)4 ($s_{ij} = 1,46$ шт.), Роз ст 9-1 2017 х Клибка куба ($s_{ij} = 1,38$ шт.) и Роз ст3-23 х Клибка куба ($s_{ij} = 1,15$ шт.).

В 2023 г. число листьев до первого соцветия у изученных гибридных комбинаций варьировало от 6,0 до 9,25 шт., при среднем значении по совокупности гибридов 7,01 шт. У всех исследованных гибридных комбинаций (100 %) данный показатель был ниже или не превышал значения, характерного для стандартного гибрида F_1 Мей Шуай (9 шт.), что свидетельствует о более раннем заложении первого соцветия у изученных гибридов.

Наименьшее число листьев до первого соцветия — 6 шт. — отмечено у следующих гибридных комбинаций: Роз St (0-1) × РБК1-264, Роз St 6-322 × «Клибка куба», Роз St 9-1 2017 × 518-1134 и Роз St 9-12 2017 × 518-1134.

Таблица 10 - Число листьев до первого соцветия у гибридных комбинаций, эффект ОКС родительских линий, шт., 2022 г.

Стерильные линии: ♀	♂ Фертильные линии				
	Среднее	РБК1-251	Клибка куба	518- 1133	gi
Роз ст (12)4	8,4	7,3	10,0	8,0	0,96
Роз ст (0-1)	7,1	6,0	7,3	8,0	-0,35
Роз ст (0-12)	6,7	6,5	6,7	7,0	-0,73
Роз ст (0-13)	7,5	8,0	7,6	7,0	0,06
Роз ст 6-322	6,59	6,8	7,0	6	-0,87
Роз ст 3-14	7,93	8	8	7,79	0,47
Роз ст 3-11	7,08	8	6	7,26	-0,37
Роз ст 6-321	6,84	6,5	7	7,01	-0,62
Роз ст 5-1	7,88	8	7,65	8	0,42
Роз ст 5-12	7,52	8	7,56	7	0,06
Роз ст 7-3	7,88	8	7,65	8	0,42
Роз ст 4-431	7,38	6,95	7,2	8	-0,07
Роз ст 4-432	8,77	9	8,32	9	1,31
Роз ст3-23	7,72	6,5	9	7,68	0,27
Роз ст 1-3	7,01	7,02	7,01	7	-0,45
Роз ст8-61	7,50	8	7	7,51	0,04
Роз ст 9-121	6,83	7	7	6,51	-0,62
Роз ст 9-1	8,35	9	8,06	8	0,89
Роз ст 9-1 2017	7,50	7,51	9	6	0,04
Роз ст 9-12 2017	6,54	6,79	6,83	6	-0,92

g_i	5,07	4,86	4,64	$u = 7,46$
F1 Мей шуай = 9 шт				

Среди материнских форм, представленных 10 стерильными линиями, число листьев до первого соцветия варьировало от 6,3 до 9,5 шт. Сравнение средних значений данного признака у гибридных комбинаций и их родительских форм показало, что у большинства гибридов до формирования первого соцветия образовывалось меньше листьев, чем у соответствующих родительских линий. Это свидетельствует о проявлении у данных гибридных комбинаций истинного гетерозиса по скороспелости.

В 2023 г. среди стерильных линий наиболее выраженный отрицательный эффект общей комбинационной способности (ОКС) отмечен у линий Роз St 4-432 ($g_i = -0,90$ шт.), Роз St 9-1 ($g_i = -0,48$ шт.) и Роз St (0-12) ($g_i = -0,47$ шт.). Наиболее высокие положительные эффекты ОКС выявлены у линий Роз St 9-1 2017 ($g_i = 1,32$ шт.) и Роз St 4-431 ($g_i = 0,68$ шт.).

Среди фертильных линий максимальный отрицательный эффект ОКС установлен у линии «Клибка куба» ($g_i = -0,03$ шт.), тогда как максимальный положительный эффект ОКС отмечен у линии РБК1-251 ($g_j = 0,11$ шт.) (табл. 11).

Таблица 11 - Число листьев до первого соцветия у гибридных комбинаций, эффекты ОКС, родительских линий, шт., 2023 г.

Стерильные линии: ♀	♂ Фертильные линии				
	Среднее	РБК1-251	КК	518-1133	g_i
Роз ст (0-12)	6,54	6	6,62	7	-0,47
Роз ст (0-13)	6,95	7	6,85	7	-0,06
Роз ст 6-322	6,95	7	6,87	7	-0,05
Роз ст 4-431	7,69	8,75	7,32	7	0,68
Роз ст 4-432	6,11	6,33	6	6	-0,9
Роз ст3-23	7,39	7	7,17	8	0,38
Роз ст 9-1	6,52	6	7,25	6,33	-0,48
Роз ст 9-1 2017	8,33	9,25	7,75	8	1,32

Роз ст 9-12 2017	6,61	6,83	7	6	-0,4
g _j		0,11	-0,03	-0,08	u=7,01
F1 Мей шуай = 9 шт					

Эффекты специфической комбинационной способности (СКС) изученных гибридных комбинаций по признаку «число листьев до первого соцветия» варьировали от $-0,66$ до $0,94$ шт. Наиболее выраженный отрицательный эффект СКС отмечен у гибридных комбинаций Роз St (0-12) $\times$ РБК1-251 ($s_{ij} = -0,66$ шт.) и Роз St 9-1 $\times$ РБК1-251 ($s_{ij} = -0,65$ шт.).

Максимальный положительный эффект СКС установлен у гибридной комбинации Роз St 4-431 $\times$ РБК1-251 ($s_{ij} = 0,94$ шт.). Полученные значения свидетельствуют о различиях гибридных комбинаций по специфическому взаимодействию родительских форм при формировании данного признака.

3-2-2 Продолжительность периода «всходы – начало цветения» гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий

В 2022 г. продолжительность периода от всходов до начала цветения у стерильных линий варьировала от $54,67$ до $59,66$ суток, у гибридных комбинаций — от 54 до 61 суток, тогда как у стандартного гибрида F₁ Мей Шуай данный показатель составлял 55 суток.

Наименьшую продолжительность периода «всходы — начало цветения» (54 суток) отмечали у гибридных комбинаций № 1 (Роз St 1-3 $\times$ РБК1-251), № 5 (Роз St 3-23 $\times$ РБК1-251), № 18 (Роз St 8-61 $\times$ «Клибка куба»), № 20 (Роз St 9-121 $\times$ 518-1133), № 25 (Роз St 9-12 2017 $\times$ 518-1133) и № 27 (Роз St 9-1 $\times$ 518-1133). Указанные комбинации зацветали на 1 сутки раньше стандартного гибрида F₁ Мей Шуай, у которого продолжительность данного периода составляла 55 суток.

Дисперсионный анализ комбинационной способности показал наличие существенных различий между изученными линиями по эффектам общей (ОКС) и специфической комбинационной способности (СКС).

В 2022 г. наиболее выраженные отрицательные эффекты ОКС среди стерильных линий отмечены у Роз St 3-23 и Роз St 9-121 ($g_i = -1,65$ суток), а также у Роз St 9-12 2017 ($g_i = -1,98$ суток). Среди фертильных линий максимальный отрицательный эффект ОКС выявлен у «Клибка куба» ($g_j = -0,05$ суток).

Наиболее высокие положительные эффекты ОКС среди стерильных линий установлены у Роз St (12)4 ($g_i = 3,01$ суток) и Роз St 4-431 ($g_i = 2,35$ суток). Среди фертильных линий максимальное положительное значение эффекта ОКС отмечено у 518-1133 ($g_j = 0,05$ суток) (табл. 12).

Таблица 12- Продолжительность периода «всходы – начало цветения» у гибридных комбинаций, эффект ОКС родительских линий, суток, 2022 г.

Стерильные линии: ♀	♂ Фертильные линии				
	Среднее	РБК1-251	Клибка куба	518-1133	g_i
Роз ст (12)4	59,7	59	61	59	3,01
Роз ст (0-1)	56,3	55	57	57	-0,31
Роз ст (0-12)	56	55	58	55	-0,65
Роз ст (0-13)	56	55	58	55	-0,65
Роз ст 6-322	58,3	58	58	59	1,68
Роз ст 3-14	56,6	57	56	57	0,02
Роз ст 3-11	56,6	57	56	57	0,02
Роз ст 6-321	57,6	58	58	57	1,02
Роз ст 5-1	57	57	57	57	0,35
Роз ст 5-12	57	57	57	57	0,35
Роз ст 7-3	58,6	59	58	59	2,02
Роз ст 4-431	59	59	58	60	2,35
Роз ст 4-432	56	56	56	56	-0,65
Роз ст3-23	55	54	55	56	-1,65
Роз ст 1-3	56	54	56	58	-0,65
Роз ст8-61	55,6	55	54	58	-0,98
Роз ст 9-121	55	56	55	54	-1,65
Роз ст 9-1	56	58	56	54	-0,65
Роз ст 9-1 2017	55,6	58	54	55	-0,98

Роз ст 9-12 2017	54,6	56	54	54	-1,98
g _j		0	-0,05	0,05	
					u=107,57
F1 Мей шуай = 55 суток					

В 2022 г. эффекты специфической комбинационной способности (СКС) по продолжительности периода «всходы – начало цветения» варьировали от – 7,61 до 7,05 суток. Наиболее выраженные отрицательные значения эффекта СКС установлены у гибридных комбинаций Роз St 7-3 × 518-1133 ($s_{ij} = -6,94$ суток), Роз St (0-1) × 518-1133 ($s_{ij} = -6,82$ суток) и Роз St 3-14 × «Клибка куба» ($s_{ij} = -6,54$ суток). Максимальный положительный эффект СКС отмечен у комбинации Роз St 6-321 × РБК1-251 ($s_{ij} = 3,50$ суток).

В 2023 г. продолжительность периода от всходов до начала цветения у стерильных родительских линий находилась в пределах 55,87–59,95 суток, при среднем значении 57,95 суток. У гибридных комбинаций данный показатель варьировал от 55 до 61 суток.

Наиболее ранним началом цветения характеризовалась гибридная комбинация Роз St (0-12) × РБК1-251, у которой продолжительность периода «всходы – начало цветения» составила 55 суток, что соответствовало показателю стандартного гибрида F₁ Мей Шуай. Наибольшая продолжительность данного периода (60 суток) отмечена у комбинаций Роз St 9-12 2017 × РБК1-251 и Роз St 9-12 2017 × 518-1133.

Анализ эффектов общей комбинационной способности (ОКС) в 2023 г. показал, что среди стерильных линий наиболее выраженные отрицательные значения отмечены у Роз St (0-12) ($g_i = -2,07$ суток) и Роз St 9-1 ($g_i = -0,83$ суток). Среди фертильных линий отрицательные эффекты ОКС выявлены у РБК1-251 ($g_j = -0,15$ суток) и «Клибка куба» ($g_j = -0,09$ суток).

Наиболее высокие положительные эффекты ОКС среди стерильных линий установлены у Роз St (0-13) ($g_i = 1,75$ суток) и Роз St 9-12 2017 ($g_i = 1,67$ суток). Среди фертильных линий максимальное положительное значение эффекта ОКС отмечено у 518-1133 ($g_j = 0,26$ суток) (табл. 13).

В 2023 г. эффекты СКС гибридных комбинаций варьировали от –1,59 до 1,75 суток. Максимальный отрицательный эффект СКС выявлен у комбинации Роз Ст 4-431 × 518-1133 ($s_{ij} = -1,59$ суток), тогда как максимальное положительное значение отмечено у комбинации Роз Ст (0-13) × РБК1-251 ($s_{ij} = 1,43$ суток) (табл. 13).

Таблица 13 - Продолжительность периода «всходы – начало цветения» у гибридных комбинаций, эффект ОКС родительских линий, суток, 2023г.

Стерильные линии: ♀	♂ Фертильные линии				
	Среднее	РБК1-251	Клибка куба	518-1133	gi
Роз ст (0-12)	55,87	55	56,62	56	-2,07
Роз ст (0-13)	59,70	61	59,12	59	1,75
Роз ст 6-322	58,78	58,35	58	60	0,83
Роз ст 4-431	57,33	57	59	56	-0,62
Роз ст 4-432	57,58	57	57,75	58	-0,37
Роз ст3-23	57,62	58	57	57,87	-0,33
Роз ст 9-1	57,12	56	57,37	58	-0,83
Роз ст 9-1 2017	57,95	57,86	57	59	0,00
Роз ст 9-12 2017	59,62	60	58,87	60	1,67
gj		-0,149	-0,09	0,26	u=57,95
F1 Мей шуай = 55 суток					

3-2-3 Продолжительность периода «всходы – начало созревания» гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий

В 2022 г. продолжительность периода «всходы – созревание» у стерильных линий варьировала от 100 до 112 суток, у гибридных комбинаций — также от 100 до 112 суток, тогда как у стандартного гибрида F₁ Мей Шуай данный показатель составлял 105 суток. Наиболее короткий период от всходов до созревания (100 суток) отмечен у гибридных комбинаций Роз Ст (0-1) × РБК1-251 и Роз Ст 4-431 × «Клибка куба». Несколько более продолжительный период (101 сутки) установлен у комбинаций Роз Ст 6-322 × 518-1133 и Роз Ст 4-431 × 518-1133. Таким образом, указанные гибриды

характеризовались наиболее ранним наступлением созревания по сравнению с другими изученными комбинациями и стандартным гибридом.

Дисперсионный анализ комбинационной способности родительских линий выявил статистически значимые различия по эффектам общей (ОКС) и специфической комбинационной способности (СКС), что свидетельствует о различиях родительских форм и их комбинаций в проявлении данного признака.

В 2022 г. эффекты ОКС у стерильных линий варьировали от –7,23 до 2,76 суток, тогда как у фертильных линий — от –0,17 до 0,28 суток. Наиболее выраженные эффекты ОКС по продолжительности периода «всходы – созревание» среди стерильных линий отмечены у Роз St 5-1, Роз St 5-12, Роз St 9-121 и Роз St 9-1, а среди фертильных линий — у 518-1133 (табл. 14).

Таблица 14 - Продолжительность периода «всходы – начало созревания плодов» у гибридных комбинаций, эффект ОКС, родительских линий, суток, 2022, Москва

Стерильные линии: ♀		♂ Фертильные линии			
		РБК1-251	Клибка куба	518-1133	gi
Роз ст (12)4	108	108	109	108	0,76
Роз ст (0-1)	100	100	109	112	-0,57
Роз ст (0-12)	106	106	112	108	1,09
Роз ст (0-13)	106	106	112	103	-0,57
Роз ст 6-322	112	112	100	101	-3,23
Роз ст 3-14	112	112	102	112	1,09
Роз ст 3-11	112	112	103	112	1,43
Роз ст 6-321	111	111	100	112	0,09
Роз ст 5-1	105	105	112	112	2,09
Роз ст 5-12	112	112	112	107	2,76
Роз ст 7-3	108	108	112	100	-0,90
Роз ст 4-431	100	100	100	101	-7,23
Роз ст 4-432	112	112	112	101	0,76
Роз ст 3-23	102	102	102	112	-2,23
Роз ст 1-3	102	102	111	112	0,76
Роз ст 8-61	102	102	100	112	-2,90

Роз ст 9-121	106	106	112	111	2,09
Роз ст 9-1	108	108	112	109	2,09
Роз ст 9-1 2017	112	112	107	106	0,76
Роз ст 9-12 2017	112	112	110	106	1,76
gj		-0,17	-0,12	0,28	u=107,57
F1 Мей шуай = 105 суток					

По результатам оценки общей комбинационной способности установлено, что наибольшую селекционную ценность для создания скороспелых гибридов представляют линии Роз St 4-431 и Роз St 6-322, характеризующиеся наиболее выраженными отрицательными эффектами ОКС по продолжительности периода «всходы – созревание», составляющими –7,23 и –3,23 суток, соответственно. Отрицательные значения эффектов ОКС указывают на способность данных линий снижать продолжительность вегетационного периода в гибридных комбинациях.

В 2023 г. продолжительность периода «всходы – начало созревания плодов» у стерильных родительских линий варьировала от 100,3 до 108,5 суток, у гибридных комбинаций — от 100 до 111 суток. У стандартного гибрида F₁ Мей Шуай продолжительность данного периода составляла 105 суток (табл. 15).

Наименьшую продолжительность периода «всходы – начало созревания плодов» (100 суток) отмечали у гибридных комбинаций Роз St (0-12) × РБК1-251 и Роз St 3-23 × РБК1-251. У комбинации Роз St 4-431 × 518-1133 данный показатель составлял 101 сутки. Таким образом, указанные гибридные комбинации характеризовались более ранним наступлением созревания по сравнению со стандартным гибридом F₁ Мей Шуай, у которого данный период составлял 105 суток.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у ряда изученных родительских линий и гибридных комбинаций генетически обусловленной

способности к сокращению периода от всходов до начала созревания, что представляет интерес для селекции томата на скороспелость.

Таблица 15 - Продолжительность периода «всходы – начало созревания плодов» у гибридных комбинаций, эффект ОКС, родительских линий, суток, 2023, Москва

Стерильные линии: ♀		♂ Фертильные линии			
		РБК1-251	Клибка куба (кк)	518-1133	g _i
Роз ст (0-12)	104,4	100	106	107	-1,30
Роз ст (0-13)	108,0	111	107	106	2,28
Роз ст 6-322	108,5	108	107	111	2,78
Роз ст 4-431	100,3	100	100	101	-5,38
Роз ст 4-432	106,0	110	106	102	0,26
Роз ст3-23	101,8	100	102	103	-3,90
Роз ст 9-1	106,8	108	106	106	1,09
Роз ст 9-1	105,2	106	102	108	-0,51
2017					
Роз ст 9-12	108,1	107	111	106	2,38
2017					
g _j		-0,22	-0,43	-0,11	u=105,72
F1 Мей шуай = 105 суток					

В 2023 г. величина эффектов общей комбинационной способности (ОКС) у стерильных линий варьировала от **-5,38 до 2,78 суток**, тогда как у фертильных линий данный показатель находился в пределах от **-0,43 до -0,11 суток**.

Среди стерильных линий наиболее выраженные отрицательные эффекты ОКС отмечены у **Роз St 4-431** ($g_i = -5,38$ суток) и **Роз St 3-23** ($g_i = -3,90$ суток). Среди фертильных линий наиболее отрицательное значение ОКС установлено у **518-1133** ($g_j = -0,22$ суток). Линии, характеризующиеся отрицательными эффектами ОКС, представляют интерес в качестве исходного материала при селекции на скороспелость, поскольку их использование в

скрещиваниях может способствовать сокращению продолжительности периода от всходов до начала созревания.

Наиболее высокие положительные эффекты ОКС среди стерильных линий выявлены у Роз St (0-13) ($g_i = 2,28$ суток), Роз St 9-12 2017 ($g_i = 2,38$ суток) и Роз St 6-322 ($g_i = 2,78$ суток) (табл. 15).

Эффекты специфической комбинационной способности (СКС) гибридных комбинаций по данному признаку варьировали от $-4,45$ до $3,98$ суток. Минимальное значение эффекта СКС отмечено у комбинации Роз St (0-12) $\times$ РБК1-251 ($s_{ij} = -4,45$ суток), а максимальное положительное значение — у комбинации Роз St 4-432 $\times$ РБК1-251 ($s_{ij} = 3,98$ суток).

Другие наиболее выраженные отрицательные эффекты СКС установлены у гибридных комбинаций Роз St 4-432 $\times$ 518-1133 ($s_{ij} = -4,13$ суток) и Роз St 9-1 2017 $\times$ «Клибка куба» ($s_{ij} = -3,03$ суток).

Таким образом, выявленные различия по эффектам ОКС и СКС характеризуют неодинаковый вклад родительских линий и их специфических сочетаний в формирование продолжительности периода от всходов до начала созревания плодов.

3-2-4 Число плодов на одном растении гибридных комбинаций и комбинационная способность родительских линий

В 2022 г. число плодов на одном растении у стерильных родительских линий варьировало от $17,8$ до $56,6$ шт. Минимальное значение данного показателя отмечено у линии Роз St (0-13), максимальное — у линии Роз St 4-432. У гибридных комбинаций число плодов на одном растении находилось в пределах от $16,0$ до $70,33$ шт. Наименьшее значение установлено у комбинации Роз St (0-13) $\times$ 518-1133, наибольшее — у Роз St 3-11 $\times$ «Клибка куба». У стандартного гибрида F_1 Мей Шуай число плодов на одном растении составляло $19,17$ шт.

Установлено, что у 93,33 % изученных гибридных комбинаций число плодов на одном растении превышало данный показатель у стандартного гибрида F₁ Мей Шуай, что свидетельствует о высокой потенциальной продуктивности большинства исследованных комбинаций по данному компоненту урожайности.

Дисперсионный анализ комбинационной способности выявил статистически значимые различия между родительскими линиями и гибридными комбинациями по эффектам общей (ОКС) и специфической комбинационной способности (СКС), что свидетельствует о существенном влиянии как аддитивных, так и неаддитивных генетических эффектов на формирование числа плодов на растении.

В 2022 г. эффекты ОКС у стерильных линий варьировали от –14,72 до 24,05 плода. Наиболее высокие положительные значения эффекта ОКС отмечены у линий Роз St 6-322 ($g_i = 12,87$ плода), Роз St 3-11 ($g_i = 10,32$ плода) и Роз St 4-431 ($g_i = 22,76$ плода) (табл. 16).

Эффекты СКС гибридных комбинаций колебались в пределах от -18,26 плодов (Роз ст 3-11 x 518-1133) до 21,91 плодов (Роз ст 6-322 x Клибка куба).

Таблица 16 - Число плодов на растении у гибридных комбинаций, эффект ОКС родительских линий томата, шт., 2022 г., Москва.

Стерильные линии: ♀	♂ Фертильные линии				
	Среднее	РБК1-251	Клибка куба	518-1133	g_i
Роз ст (12)4	30,58	26,50	34,57	30,67	-1,93
Роз ст (0-1)	21,98	25,17	20,39	20,39	-10,53
Роз ст (0-12)	32,46	32,67	32,46	32,25	-0,05
Роз ст (0-13)	17,79	19,58	17,79	16,00	-14,72
Роз ст 6-322	45,4	38,83	74,00	23,33	12,87
Роз ст 3-14	28,70	29,90	37,25	19,00	-3,79
Роз ст 3-11	42,83	38,17	70,33	20,00	10,32
Роз ст 6-321	31,00	19,87	54,25	19,00	-1,47
Роз ст 5-1	26,66	24,75	31,24	24,00	-5,84
Роз ст 5-12	26,00	24,00	29,58	24,50	-6,48
Роз ст 7-3	22,56	21,25	27,04	19,41	-9,94

Роз ст 4-431	55,27	37,58	63,42	64,83	22,76
Роз ст 4-432	56,57	46,28	60,00	63,42	24,05
Роз ст3-23	38,11	33,83	46,83	33,69	5,60
Роз ст 1-3	29,63	30,67	30,00	28,22	-2,88
Роз ст8-61	23,84	25,25	21,50	24,78	-8,66
Роз ст 9-121	30,33	33,42	38,58	19,00	-2,17
Роз ст 9-1	33,51	46,50	35,37	18,66	1,00
Роз ст 9-1 2017	29,52	27,15	35,17	26,25	-2,98
Роз ст 9-12 2017	27,40	26,63	24,25	31,33	-5,11
g _j		-2,11	6,69	-4,57	u=32,51
F1 Мей шуай =19,17					

В 2023 г. число товарных плодов на растении у стерильных линий находилось в пределах от 22,89 до 61,47 шт., у гибридных комбинаций - от 14,17 до 65,17 шт., у стандарта – 19,17 шт. (F1 Мей шуай) (Табл. 17).

Таблица 17— Число плодов на одном растении у гибридных комбинаций и эффекты ОКС родительских линий томата, шт., 2023 г., Москва

Стерильные линии:		♂ Фертильные линии			
♀	Среднее				
		РБК1-251	Клибка куба	518-1133	g _i
Роз ст (0-12)	28,60	26,25	38,07	21,5	-11,86
Роз ст (0-13)	22,89	14,17	34,65	19,87	-17,57
Роз ст 6-322	55,42	47,75	63,5	55	14,94
Роз ст 4-431	61,47	55,16	79,5	49,75	21
Роз ст 4-432	56,77	52,00	53,16	65,17	16,30
Роз ст3-23	38,69	37,42	40,83	37,84	-1,77
Роз ст 9-1	35,36	32,5	40,58	33	-5,11
Роз ст 9-1 2017	36,14	36,84	49,08	22,5	-4,33
Роз ст 9-12 2017	28,89	32,44	28,5	25,75	-11,57
g _j		-3,3	7,07	-3,76	u=40,47
F1 Мей шуай = 19,17 плодов					

Наиболее высокое число товарных плодов на одном растении отмечено у гибридных комбинаций Роз St 4-432 × 518-1134 — 65,17 шт., Роз St 6-322 × «Клибка куба» — 63,50 шт., Роз St 4-431 × 518-1134 — 49,75 шт. и Роз St 9-1 2017 × «Клибка куба» — 49,08 шт. Указанные значения существенно

превышали показатель стандартного гибрида F₁ Мей Шуай, у которого число товарных плодов составляло 19,17 шт.

Величина эффектов общей комбинационной способности (ОКС) у стерильных родительских линий варьировала от –17,57 до 21,00 плода. Наиболее высокие положительные значения эффекта ОКС отмечены у линий Роз St 6-322 и Роз St 4-432 (табл. 17).

3-2-5 Масса товарных плодов на растение (продуктивность)

В 2022 г. у стерильных линий масса товарных плодов на растение в среднем по комбинациям стерильным линиям варьировала от 1,68 кг (Роз ст 3-14) до 3,50 кг (Роз ст (0-12)). У гибридных комбинаций - от 0,93 кг (Роз ст 6-321 × РБК1-251) до 4,23 кг (Роз ст 4-432 × 518-1133) и у стандарта – 2,81 кг (F₁ Мей шуай) (табл. 18). По результатам проведённой оценки установлено, что у большинства изученных гибридных комбинаций средняя масса товарных плодов с одного растения была ниже показателя районированного стандартного гибрида F₁ Мей Шуай. Превышение значения стандарта по данному признаку отмечено лишь у 25 % изученных гибридных комбинаций.

Полученные данные свидетельствуют о существенной вариабельности гибридных комбинаций по массе товарных плодов с одного растения и указывают на наличие различий в реализации продуктивного потенциала исследуемых генотипов.

Таблица 18 — Масса плодов с одного растения у гибридных комбинаций и эффекты общей комбинационной способности родительских линий томата, кг, 2022 г., Москва.

Стерильные линии:	Среднее	♂ Фертильные линии			
		РБК1-251	Клибка куба	518-1133	gi
♀ Роз ст (12)4	2,73	2,32	2,64	2,82	0,08
Роз ст (0-1)	2,21	1,67	2,15	1,5	-0,74
Роз ст (0-12)	3,50	2,6	2,86	3,44	0,45
Роз ст (0-13)	1,89	1,41	2,31	2,4	-0,47

Роз ст 6-322	3,02	3,63	3,38	1,55	0,34
Роз ст 3-14	1,68	2,85	1,92	1,36	-0,47
Роз ст 3-11	2,08	4,07	3,91	1,69	0,71
Роз ст 6-321	2,03	0,93	2,31	2,02	-0,75
Роз ст 5-1	2,9	3,03	2,63	2,05	0,06
Роз ст 5-12	2,03	2,07	1,9	1,94	-0,54
Роз ст 7-3	1,94	3,34	3,09	3,62	0,84
Роз ст 4-431	2,79	2,48	2,89	2,76	0,2
Роз ст 4-432	2,57	2,56	3,05	4,23	0,77
Роз ст3-23	3,06	3,02	2,66	2,63	0,26
Роз ст 1-3	1,89	2,92	2,63	2,2	0,07
Роз ст8-61	2,23	1,86	2,01	2,17	-0,49
Роз ст 9-121	1,98	1,46	2,72	0,95	-0,8
Роз ст 9-1	3,15	3,24	2,8	2,54	0,35
Роз ст 9-1 2017	2,38	2,72	3,59	2,4	0,39
Роз ст 9-12 2017	2,86	2,33	1,76	2,82	-0,21
g _j		0,005	0,14	-0,16	u=2,51
F1 Мей шуай =2,81 кг					

Дисперсионный анализ комбинационной способности линий показал, что они существенно различаются по эффектам ОКС и СКС.

В 2022 г., у стерильных линий эффект ОКС находился в пределах от – 0,75 до 0,84 кг. Максимальный положительный эффект ОКС отмечен у линий Роз ст 3-11 ($g_i = 0,77$ кг), Роз ст 7-3 ($g_i = 0,77$ кг) и Роз ст 4-432 ($g_i = 0,77$ кг), а отрицательный самый высокий эффект ОКС – у линий Роз ст (0-1) ($g_i = -0,74$ кг.), Роз ст 6-321 ($g_i = -0,75$ кг.) и Роз ст 9-121 ($g_i = -0,8$ кг.). У фертильных линий эффект ОКС варьировал от -0,16 до 0,14 кг (табл. 18).

В 2023 г., эффект ОКС у стерильных линий колебался от $g_i = -0,91$ кг (Роз ст (0-12)) до ($g_i = 0,69$ кг) Роз ст (0-13) (Табл. 19). Среди стерильных родительских линий наиболее выраженные отрицательные эффекты общей комбинационной способности (ОКС) по массе плодов с одного растения отмечены у линий Роз St (0-13) ($g_i = -0,91$ кг) и Роз St 9-1 2017 ($g_i = -0,42$ кг). Максимальные положительные эффекты ОКС выявлены у линий Роз St (0-12) ($g_i = 0,69$ кг), Роз St 9-1 ($g_i = 0,36$ кг) и Роз St 3-23 ($g_i = 0,26$ кг) (табл. 19).

В 2023 г. масса товарных плодов с одного растения у гибридных комбинаций варьировала от 1,50 кг у комбинации Роз St 4-432 × РБК1-251 до 4,49 кг у комбинации Роз St 9-1 × РБК1-251. У стандартного гибрида F₁ Мей Шуай данный показатель составлял 2,81 кг.

Превышение показателя стандартного гибрида по массе товарных плодов с одного растения отмечено у трёх гибридных комбинаций: Роз St 9-1 × РБК1-251 — 4,49 кг, Роз St (0-12) × РБК1-251 — 3,96 кг и Роз St 4-431 × 518-1133 — 3,56 кг (табл. 19).

Сопоставление показателей ОКС и СКС в течение двух лет исследований показало, что высокая масса товарных плодов с одного растения у наиболее продуктивных гибридных комбинаций формировалась при сочетании высоких эффектов ОКС родительских форм с высокими или средними эффектами СКС.

В 2023 г. у комбинации Роз St 9-1 × РБК1-251 масса товарных плодов с одного растения составила 4,49 кг при эффектах ОКС родительских линий $g_i = 0,36$ кг и $g_j = -0,10$ кг и эффекте СКС $s_{ij} = 1,43$. У комбинации Роз St (0-12) × РБК1-251 данный показатель составил 3,96 кг при $g_i = 0,69$ кг, $g_j = -0,10$ кг и $s_{ij} = 0,56$. В комбинации Роз St 4-431 × 518-1133 масса товарных плодов достигала 3,56 кг, при эффектах ОКС $g_i = 0,00$ кг и $g_j = 0,10$ кг и эффекте СКС $s_{ij} = 1,05$ (табл. 19).

Таким образом, выявленные комбинации характеризовались сочетанием высокой фактической продуктивности с положительными или близкими к нулю эффектами ОКС и положительными эффектами СКС, что позволяет выделить их в качестве перспективного исходного материала для дальнейшей селекционной работы по повышению продуктивности томата.

Таблица 19 - Масса плодов на растение гибридных комбинаций, эффекты ОКС родительских линий, г, 2023г., Москва.

Стерильные линии: ♀	Среднее	♂ Фертильные линии			
		РБК1-251	Клибка куба	518-1133	gi
Роз ст (0-12)	3,03	3,96	2,99	3,54	0,69
Роз ст (0-13)	2,49	1,85	1,89	1,92	-0,91
Роз ст 6-322	2,70	2,74	3,63	2,7	0,22
Роз ст 4-431	3,11	1,72	2,71	3,95	0,00
Роз ст 4-432	2,87	1,5	2,63	3,57	-0,23
Роз ст3-23	2,92	3,05	3,27	2,87	0,26
Роз ст 9-1	2,93	4,49	2,98	2	0,36
Роз ст 9-1 2017	3,03	2,33	3,13	1,68	-0,42
Роз ст 9-12 2017	2,49	2,65	2,03	3,89	0,05
gj		-0,10	0,00	0,10	u=2,8
F1 Мей шуай = 2,81 кг					

3-2-6 Корреляция между хозяйственными признаками у изучаемых гибридов F1

Для установления взаимосвязей между основными хозяйственно-биологическими признаками томата проведён корреляционный анализ по следующим показателям: число листьев до первого соцветия, шт.; продолжительность периода «всходы – начало цветения», сут.; продолжительность периода «всходы – начало созревания», сут.; число плодов на одном растении, шт.; масса товарных плодов с одного растения, кг (табл. 20).

В результате анализа установлено наличие корреляционных связей различной степени выраженности между изученными признаками. Между продолжительностью периода «всходы – начало цветения» и продолжительностью периода «всходы – начало созревания» выявлена отрицательная корреляция средней силы ($r = -0,47 \pm 0,03$). Это свидетельствует об обратной направленности взаимосвязи между данными признаками.

Между числом плодов на одном растении и продолжительностью периода «всходы – начало созревания» установлена положительная корреляция средней силы ($r = 0,57 \pm 0,01$). Полученная зависимость указывает на тенденцию к увеличению числа плодов на растении при увеличении продолжительности периода от всходов до начала созревания.

Таким образом, выявленные корреляционные зависимости характеризуют взаимосвязь между сроками прохождения основных фенологических фаз и формированием элементов продуктивности растений томата

Таблица 20 - Корреляция между хозяйственными признаками томата изучаемой генетической коллекции.

	Число листьев до первого соцвети я, шт	Период «всходы- цветение », сут.	Период «всходы- созревание », сут.	Число плодов на одном растени и	Продуктивнос ть, кг
Число листьев до первого соцветия, шт.	1,00 r= ---				
Период «всходы- цветение», сут.	0,13 r=0,450	1,00 r= ---			
Период «всходы- созревание», сут.	0,09 r=0,603	-0,47 r=0,003	1,00 r= ---		
Число плодов на одном растении	0,32 r=0,047	-0,20 r=0,228	0,58 r=0,000	1,00 r= ---	
Продуктивнос ть, кг	0,01 r=0,960	-0,18 r=0,280	0,24 r=0,142	0,02 r=0,923	1,00 r= ---

Отсутствует значимая корреляция между скороспелостью и продуктивностью, что указывает на возможность создания высокоурожайных скороспелых гибридов томата.

3-2-7 Изучение проявления признаков и выделение перспективных гибридных комбинаций индетерминантного розовоплодного томата устойчивых к наиболее вредоносным заболеваниям

В результате проведённого молекулярно-генетического и хозяйственно-биологического анализа установлено, что изученные гибридные комбинации характеризуются наличием комплекса генов устойчивости к основным вредоносным заболеваниям томата. В их генотипах идентифицированы маркеры генов I2, Sw-5, Ve, Tm-2², Ty, Cf, Ol и Mi, ассоциированные соответственно с устойчивостью к фузариозному увяданию, вирусу бронзовости томата, вертициллёзному увяданию, вирусу томатной мозаики, вирусу жёлтой курчавости листьев томата, кладоспориозу, мучнистой росе и галловым нематодам (табл. 21).

Для комплексной оценки гибридных комбинаций учитывали основные показатели скороспелости и продуктивности: число листьев до первого соцветия, продолжительность периодов «всходы – начало цветения» и «всходы – начало созревания», а также массу товарных плодов с одного растения. При этом перспективность гибридных комбинаций определяли с учётом сочетания комплекса изучаемых признаков, а не по отдельному показателю.

Из 60 изученных гибридных комбинаций минимальное число листьев до первого соцветия — 6 шт. — отмечено у комбинаций Роз St (0-12) × РБК1-251, Роз St 9-1 × РБК1-251 и Роз St 4-431 × 518-1133. У гибридных комбинаций Роз St 6-322 × «Клибка куба» и Роз St 3-23 × РБК1-251 данный показатель составлял соответственно 6,87 и 7,0 шт.

По продолжительности периода «всходы – начало созревания» наиболее низкие значения отмечены у гибридных комбинаций Роз St (0-12) × РБК1-251 и Роз St 3-23 × РБК1-251 — по 100 суток. У комбинации Роз St 4-431 × 518-1133 продолжительность данного периода составляла 101 сутки.

Высокие показатели продуктивности отмечены у гибридных комбинаций Роз St (0-12) × РБК1-251, Роз St 9-1 × РБК1-251 и Роз St 4-431 × 518-1133. Масса товарных плодов с одного растения у них составляла соответственно 3,96; 4,49 и 3,95 кг (табл. 21).

Таким образом, комплексная оценка исследуемых гибридных комбинаций позволила выделить генотипы, сочетающие относительно раннее наступление основных фенологических фаз с высокими показателями продуктивности и наличием маркеров генов устойчивости к комплексу наиболее распространённых заболеваний томата. На основании совокупности изученных признаков комбинации Роз St (0-12) × РБК1-251, Роз St 9-1 × РБК1-251 и Роз St 4-431 × 518-1133 представляют интерес для дальнейшего селекционного изучения и оценки их стабильности в последующих поколениях и условиях выращивания.

Таблица 21 - Характеристика наиболее перспективных F1-гибридов по хозяйственным признакам

Показатель и гибрид	Роз ст (0-12) х РБК1-251	Роз ст3-23 х РБК1-251	Роз ст 9-1 х РБК1-251	Роз ст 6-322 х Клибка куба	Роз ст 4-431 х 518-1133
Число листьев до первого соцветия, шт.	6	7	6	6,87	6
Период «всходы- цветение», сут.	55	58	56	58	56
Период «всходы-	100	100	108	107	101

созревание», сут.					
Число плодов на одном растении	26,25	37,42	49,08	63,5	65,17
Масса товарных плодов, кг	3,96	3,05	4,49	3,63	3,95
Гены устойчивости	I2, Ve, Mi, Cf5, Sw5, Tm2 ² , Ol-1, Ol-3 Ty3a	I2, Ve, Mi, Cf5, Sw5, Tm2 ² , Ol-1 Ty3a, Ol-3	I2, Ve, Mi, Cf5, Sw5, Ol-1 Tm2 ² , Ty3a Ol-3	I2, Ve, Mi, Cf5, Sw5, Ol-1 Tm2 ² , Ty3a Ol-3	I2, Ve, Mi, Cf5, Sw5, Tm2 ² , Ol-1 Ty3a, Ol-3

По совокупности изученных хозяйственно-биологических признаков наиболее перспективными выделены гибридные комбинации Роз St (0-12) × РБК1-251, Роз St 9-1 × РБК1-251 и Роз St 4-431 × 518-1133 (рис. 3).

Следует отметить, что стерильные материнские линии Роз St (0-12), Роз St 9-1 и Роз St 4-431 характеризовались выраженными отрицательными эффектами общей комбинационной способности по ряду признаков, определяющих скороспелость и продуктивность растений, включая число листьев до первого соцветия, продолжительность периодов «всходы – начало цветения» и «всходы – начало созревания», а также число плодов на одном растении.

Выраженность отрицательных эффектов ОКС у данных линий свидетельствует об их способности при скрещивании способствовать снижению продолжительности вегетационного периода и формированию отдельных элементов продуктивности у гибридного потомства.



Рисунок 3 - Плоды перспективных гибридных комбинаций (F1-гибридов) томата:

а, б, в - Роз ст (0-12) X РБК1-251)

г, д, е - (Роз ст 4-431 X 518-1133)

з, к, л - (Роз ст3-23 X РБК1-251)





3-3 Оценка фенотипического проявления устойчивости к фитофторозу линий томата и молекулярно-генетический скрининг с использованием молекулярных маркеров генов Ph3 и R

3-3-1 Оценка симптомов проявления фитофтороза линий томата на инфекционном фоне в открытом грунте

Изучение фенотипического проявления устойчивости к фитофторозу среди 12 изученных линий томата поколения F_3 позволило выявить различия по характеру реакции растений на заражение *Phytophthora infestans*. В одной линии все растения не имели визуальных признаков поражения патогеном, что свидетельствовало об устойчивой реакции генотипа. В шести линиях наблюдалось сочетание устойчивых и восприимчивых растений, тогда как в пяти линиях все растения характеризовались признаками поражения *P. infestans*. Различные типы симптомов поражения листьев и плодов томата представлены на рис. 4.

В шести линиях, в которых наблюдалось расщепление по устойчивости к фитофторозу, соотношение устойчивых и восприимчивых растений варьировало от 1,6:1 до 4,4:1. При этом в линии Кр4 выявлено соотношение

3:1, соответствующее классическому менделевскому расщеплению при моногенном наследовании признака в определённых условиях анализа.

Согласно данным табл. 22, при выращивании растений на инфекционном фоне все растения линий Кр1, Кр2, Кр5, Кр8 и Кр11 характеризовались полной восприимчивостью к фитофторозу. Доля восприимчивых растений в указанных линиях составляла 100 %, что свидетельствует о выраженности инфекционного фона и позволяет использовать полученные результаты для дифференциации генотипов по реакции на *P. infestans*.

В то же время все растения линии Кр14 характеризовались отсутствием визуальных признаков поражения фитофторозом, что указывает на устойчивую фенотипическую реакцию данной линии в условиях проведённого испытания.

В линиях Кр4, Кр6, Кр7, Кр9, Кр10 и Кр12 выявлено фенотипическое расщепление на устойчивые и восприимчивые растения. Таким образом, данные линии характеризуются внутрилинейной вариабельностью по реакции на *P. infestans*, что может быть обусловлено генетическим расщеплением по локусам, контролирующим устойчивость к фитофторозу.

В целом проведённая фенотипическая оценка позволила дифференцировать изученные линии F₃ по характеру реакции на фитофтороз: от полной восприимчивости до полной устойчивости, а также выявить линии с расщеплением по данному признаку.



а



б



в



г



Рисунок 4 - Проявление фитофториоза на селекционном материале в открытом грунте: а - восприимчивые растения F3 Кр; б - устойчивые растения F3 Кр; в, г - слева пораженные плоды, справа непораженные плоды; д, е - пораженные листья.

3-3-2 Оценка коллекции образцов томата на устойчивость к фитофторозу на инфекционном фоне

В результате фенотипической оценки установлено, что линии Кр1, Кр2, Кр5, Кр8 и Кр11 не характеризовались фенотипическим расщеплением: все растения данных линий проявляли признаки восприимчивости к фитофторозу. При условии моногенного наследования признака и отсутствия влияния других генетических факторов полученные результаты позволяют предположить, что растения указанных линий являются гомозиготными по рецессивному аллелю, обуславливающему восприимчивость к *Phytophthora infestans*.

Все растения линии Кр14 характеризовались устойчивым фенотипом и не имели визуальных признаков поражения фитофторозом. Это позволяет

предположить гомозиготное состояние доминантного аллеля, ассоциированного с устойчивостью к патогену.

В отдельных F_3 -потомствах выявлено расщепление по признаку устойчивости к фитофторозу. В потомстве Кр6 соотношение устойчивых и восприимчивых растений составило 1:1,8 при значении $\chi^2 = 1,71$, что ниже теоретического значения $\chi^2_{0,05} = 3,84$. В потомстве Кр7 установленное соотношение составило 1:4,3 ($\chi^2 = 0,67 < 3,84$), в потомстве Кр10 — 1,67:1 ($\chi^2 = 2,67 < 3,84$), а в потомстве Кр12 — 1:1,7 ($\chi^2 = 2,08 < 3,84$).

Во всех перечисленных случаях фактические значения критерия χ^2 не превышали теоретического значения при принятом уровне значимости. Следовательно, выявленные отклонения наблюдаемых частот устойчивых и восприимчивых растений от предполагаемого характера расщепления не являются статистически значимыми. Полученные результаты свидетельствуют о наличии генетического расщепления в исследованных F_3 -потомствах, однако для установления конкретной генетической модели наследования устойчивости необходимы дополнительные данные, включая увеличение объёма выборки и, при необходимости, молекулярно-генетический анализ соответствующих локусов.

Таблица 22 - Результаты оценки коллекции образцов томата на устойчивость к фитофторозу на инфекционном фоне, Москва, 2023 г.

Название образца	Общее число растений	Число растений		Фактическое расщепление, R : S	Теоретически ожидаемое, R:S	χ^2 факт. (P05)
		Устойчивых, R	Восприимчивых, S			
Кр1	24	0	24	-		-
Кр2	28	0	28	-		-
Кр4	32	24	8	3 : 1	3 : 1	0,00
Кр5	28	0	28	-		-
Кр6	28	18	10	2,6 : 1,4	3 : 1	1,71
Кр7	32	26	6	3,2 : 0,8	3 : 1	0,67
Кр8	24	0	24	-		-
Кр9	26	16	10	2,5 : 1,5	3 : 1	2,51

Кр10	32	20	12	2,5 : 1,5	3 : 1	2,67
Кр11	24	0	24	-		-
Кр12	27	17	10	2,5 : 1,5	3 : 1	2,08
Кр14	30	30	0	-		-

Полученные значения фенотипического расщепления в отдельных F₃-потомствах в целом приближались к теоретически ожидаемому соотношению 3:1, характерному для моногенного наследования признака при полном доминировании. При этом статистический анализ показал отсутствие достоверных различий между наблюдаемыми и теоретически ожидаемыми частотами (табл. 22).

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить участие одного основного гена в контроле устойчивости к *Phytophthora infestans* у исследованных генотипов. Вместе с тем на основании только фенотипического расщепления в F₃-потомствах сделать однозначный вывод о характере доминирования невозможно. Для подтверждения предположения о неполном или частичном доминировании необходимы дополнительные исследования с использованием соответствующих скрещиваний и молекулярно-генетических маркеров.

По данным Hanson et al. (2016), ген *Ph3* рассматривается как доминантный ген, обеспечивающий устойчивость томата к фитофторозу. Полученные в настоящем исследовании результаты не противоречат возможности участия доминантного гена в контроле устойчивости, однако особенности фенотипического проявления признака в изученных потомствах требуют дальнейшего уточнения характера его наследования.

3-3-3 Определение наличия гена *Ph3* у линий томата Кр6

Сорта томата, содержащие только *Ph-3*, были эффективны в Танзании (Ojiewo et al., 2010) и, вероятно, в других странах Восточной Африки, где изоляты *P. infestan* получены из клональной линии US-1 (Pule et al., 2013). Было подтверждено, что одновременное присутствие генов *ph-3* в томате

обеспечивает высокую устойчивость к широкому диапазону изолятов *P. infestans* (Foold & Panthee, 2012).

В отсутствие сайта рестрикции маркер гена устойчивости амплифицирует область размером 500 п.н. и не разрезается рестриктазой BstNI (5'-CC'WGG-3'). В случае присутствия гена *Ph-3* последовательность маркера разрезается рестриктазой BstNI на фрагмент длиной 260 п.н. и еще один фрагмент длиной 240 п.н.

В настоящем исследовании проведён молекулярно-генетический анализ растений расщепляющегося F₃-потомства томата линии Крб с использованием маркера TG328, сцепленного с геном Ph3, определяющим устойчивость к фитофторозу. При ПЦР-амплификации без последующей обработки рестриктазой BstNI у всех исследованных растений выявлен единичный фрагмент размером 500 п.н. (рис. 5), что свидетельствует об эффективности использования данного маркера для амплификации исследуемого локуса.

Для дифференциации аллельных вариантов амплифицированные продукты подвергали рестрикционному анализу с использованием эндонуклеазы BstNI. Электрофоретический анализ продуктов рестрикции показал, что у растений Крб-1, Крб-2, Крб-3 и Крб-4 одновременно выявлялись фрагмент размером 500 п.н. и два фрагмента размером около 240 и 260 п.н. (рис. 6). Наличие исходного фрагмента и продуктов его рестрикции указывает на присутствие двух вариантов исследуемого локуса и позволяет идентифицировать данные растения как гетерозиготные по соответствующему маркерному локусу.

У растений Крб-5, Крб-6, Крб-7, Крб-8, Крб-9, Крб-10, Крб-11 и Крб-12 после обработки амплифицированного продукта рестриктазой BstNI выявлялся только фрагмент размером 500 п.н., тогда как фрагменты размером 240 и 260 п.н. отсутствовали. Это свидетельствует об отсутствии соответствующего сайта рестрикции в данной последовательности. В соответствии с используемой системой маркерного анализа такой профиль

соответствует рецессивному аллельному состоянию локуса, ассоциированному с восприимчивостью к фитофторозу.

Таким образом, результаты электрофоретического анализа позволили дифференцировать растения F₃-потомства линии Кр6 по состоянию локуса, сцепленного с геном Ph3. Растения Кр6-1 – Кр6-4, у которых одновременно выявлялись фрагменты 500, 240 и 260 п.н., были идентифицированы как гетерозиготные. Растения Кр6-5 – Кр6-12, характеризовавшиеся наличием только фрагмента 500 п.н., были отнесены к гомозиготному состоянию по соответствующему рецессивному аллелю.

Следует отметить, что наличие маркерного аллеля, ассоциированного с Ph3, не обязательно означает формирование абсолютной устойчивости к *Phytophthora infestans*. Ранее было установлено, что степень проявления устойчивости может зависеть от уровня экспрессии Ph3, генетического фона растения и взаимодействия с другими генами устойчивости. Кроме того, показано существование изолятов *P. infestans*, способных преодолевать устойчивость, обусловленную геном Ph3 (Chunwongse et al., 2002). Поэтому полученные результаты молекулярного анализа целесообразно рассматривать совместно с данными фенотипической оценки устойчивости растений на инфекционном фоне.

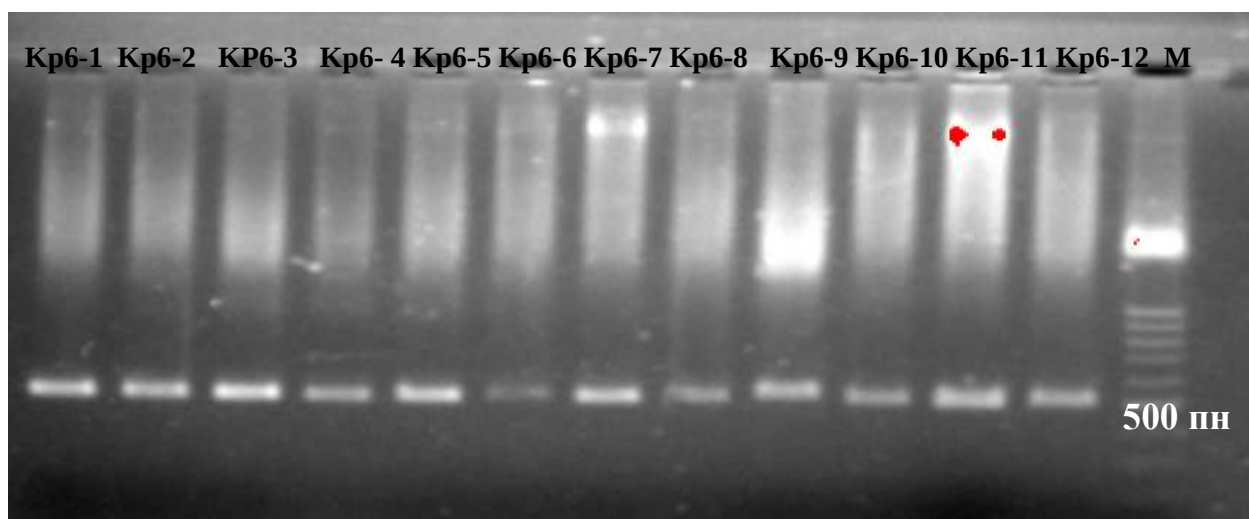


Рисунок 5- Электрофореграмма продуктов амплификации потомства F₃ Кр6-1 – Кр6-12, без рестриказы, М – маркер длин фрагментов ДНК.

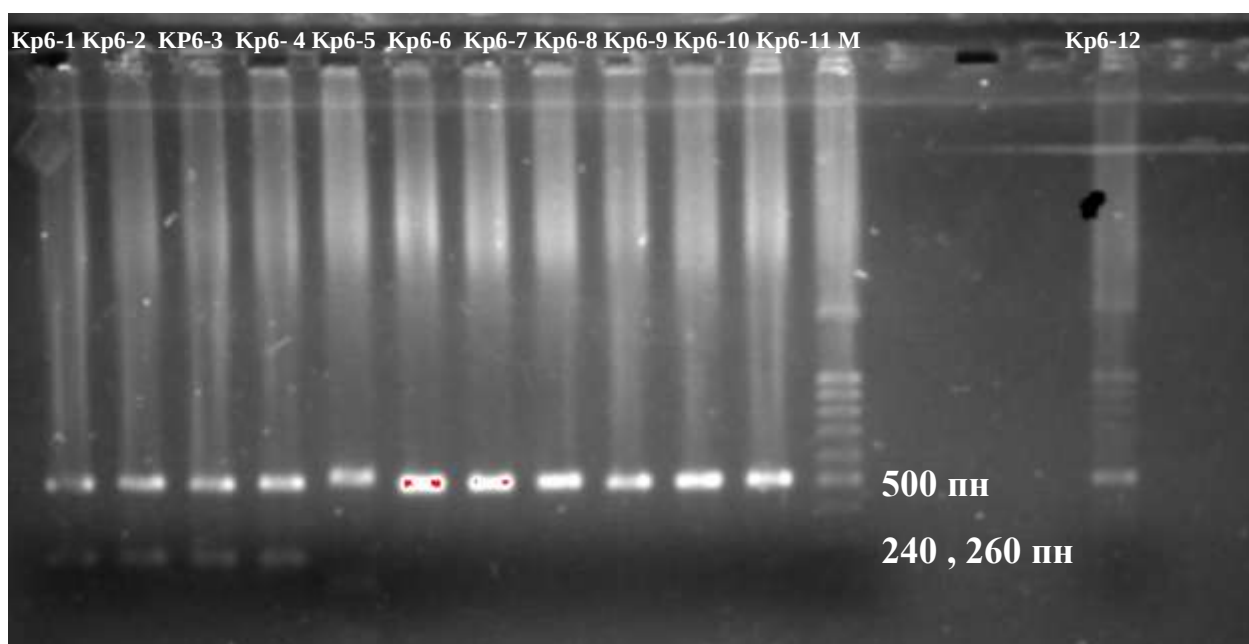


Рисунок 6 - Электрофореграмма продуктов амплификации потомства F3 Кр6-1 –Кр6-12. С рестриктазой BstNI, 1-4 – гетерозиготные устойчивые генотипы; 5-12 – рецессивный гомозиготный генотип восприимчивые к фитофторозу, М – маркер длин фрагментов ДНК.

3-3-4 Определение наличия гена *R1* в геноме линий томата Кр6

В ранних исследованиях фрагмент гена *R1* длиной 1205 п.н. был клонирован из сортов картофеля Ильинский и Скороплодный, несущих генетический материал *S. demissum*, нуклеотидная последовательность этих фрагментов определена Соколовой и др. (2011).

Маркер R1-1400, первоначально выявленный у некоторых сортов картофеля, был использован для анализа потомства F3 томата Кр6. Электрофоретический анализ продуктов ПЦР-амплификации в агарозном геле показал наличие фрагмента размером 1400 п.н. у растений Кр6-1, Кр6-2, Кр6-3, Кр6-4, Кр6-5, Кр6-6, Кр6-8, Кр6-10, Кр6-11 и Кр6-12 (рис. 7г). Полученный ампликон соответствует фрагменту, ассоциированному с маркером R1-1400, что позволяет предположить наличие у указанных растений соответствующего маркерного локуса.

Вместе с тем при использовании маркера R1-1205 специфического фрагмента, соответствующего ожидаемому продукту амплификации, у исследованных растений не выявлено (рис. 7в). Таким образом, результаты, полученные с использованием двух маркеров, не полностью согласуются между собой. В связи с этим наличие функционального гена R1 у исследованных растений не может быть подтверждено исключительно на основании выявления фрагмента размером 1400 п.н. Для окончательной идентификации данного гена необходимы дополнительные молекулярные маркеры, непосредственно ассоциированные с локусом R1, либо секвенирование соответствующего участка генома.

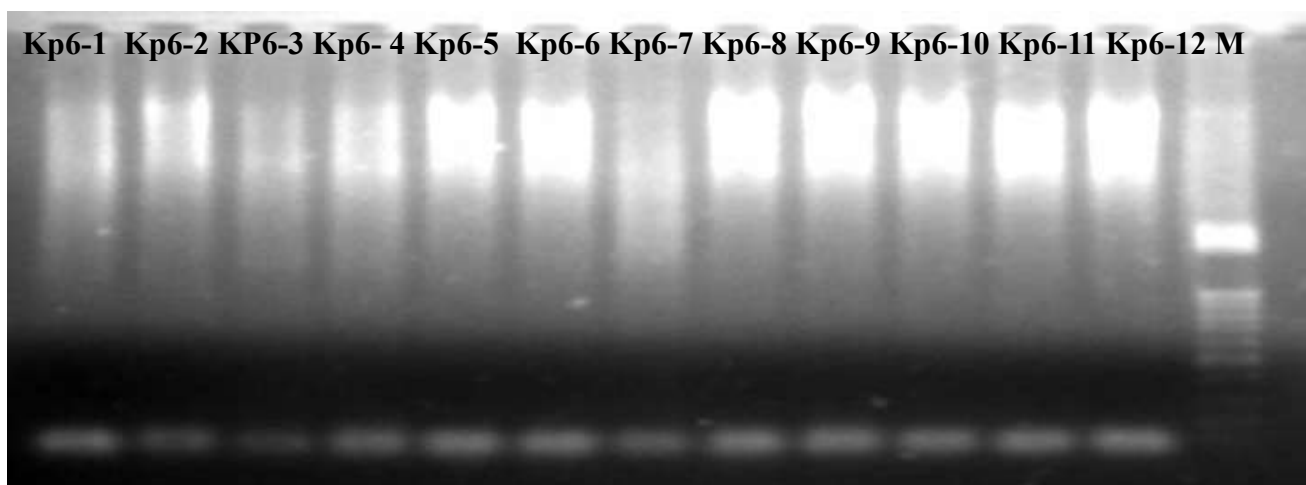
Известно, что фрагмент гена R3a размером 1380 п.н. был клонирован из ряда генотипов картофеля, включая сорта Адретта, Никулинский и Архидея (GenBank: JN609620, JN609621, JN609622). Соколова и соавт. (2011) использовали маркеры R3-1380 и RT-R3a для идентификации данного гена. В настоящем исследовании при электрофоретическом анализе продуктов ПЦР-амплификации F₃-потомства томата линии Крб с использованием указанных маркеров ожидаемый фрагмент размером 1380 п.н. не выявлен (рис. 7а, б). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии у исследованных растений томата маркерного локуса, соответствующего R3a.

Сопоставление результатов молекулярного анализа с данными фенотипической оценки устойчивости к *Phytophthora infestans* показало, что проявление устойчивости в F₃-потомстве линии Крб характеризуется определённой вариабельностью. В начале оценки часть растений демонстрировала устойчивый фенотип, однако к концу вегетационного периода доля полностью устойчивых растений в расщепляющейся популяции снижалась. Наиболее стабильное проявление устойчивости наблюдалось у потомства, полученного от гомозиготных устойчивых генотипов.

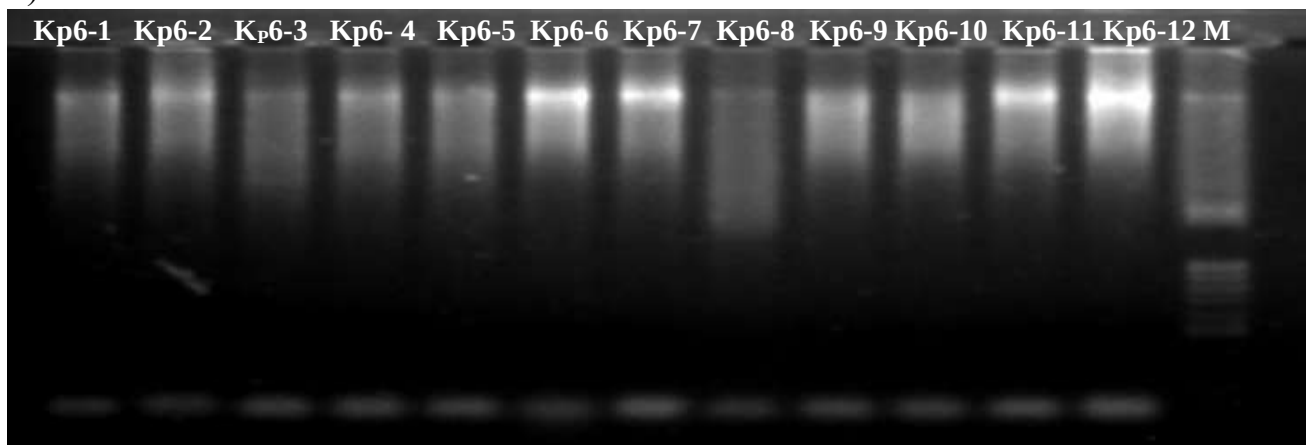
Полученные данные согласуются с результатами Hanson et al. (2016), согласно которым ген *Ph3* относится к генам, обеспечивающим доминантный тип наследования устойчивости к фитофторозу. В то же время снижение степени устойчивости отдельных растений в процессе вегетации указывает на то, что фенотипическое проявление устойчивости может зависеть не только от наличия соответствующего аллеля *Ph3*, но и от генотипа растения, уровня экспрессии гена и взаимодействия с другими компонентами системы устойчивости.

Таким образом, результаты настоящего исследования подтверждают целесообразность комплексной оценки устойчивости к фитофторозу, включающей сочетание молекулярно-генетического маркирования и фенотипического тестирования на инфекционном фоне. Растения, у которых наличие маркерного аллеля *Ph3* сочетается со стабильным устойчивым фенотипом, представляют наибольший интерес для последующего селекционного использования и дальнейшего изучения характера наследования устойчивости.

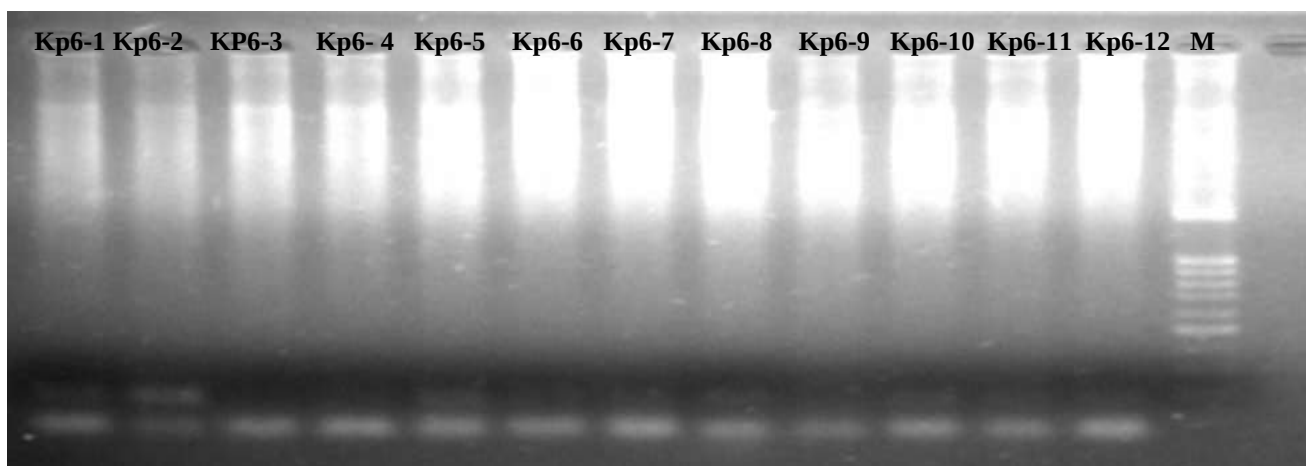
а) R3-1380



б) RT-R3a



в) R1-1205



г) R1-1400

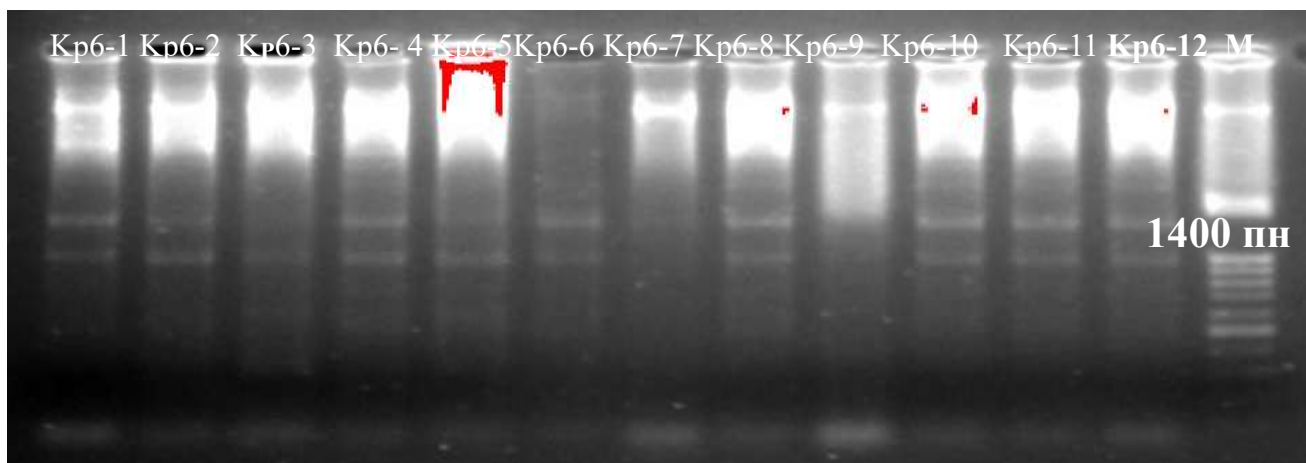


Рисунок 7- Электрофореграмма продуктов амплификации потомства F3 растений томата линии Кр6 с маркерами (а) R3-1380, (б) RT-R3a, (в) R1-1205 и (г) R1-1400, М – М – маркер длин фрагментов ДНК; Кр6-1, Кр6-2, КР6-3, Кр6-4, Кр6-5, Кр6-6, Кр6-7, Кр6-8, Кр6-9, Кр6-10 Кр6-11 и Кр6-12.

Полученные результаты молекулярного и фенотипического анализа позволяют предположить, что проявление устойчивости к *Phytophthora infestans*, обусловленной локусом Ph3, в исследуемом материале характеризуется неполным проявлением доминирования. Данное предположение основано на выявленной вариабельности фенотипической реакции растений, несущих различные аллельные состояния маркерного локуса. Вместе с тем для окончательного установления характера доминирования необходимы дополнительные исследования с использованием соответствующих генетических скрещиваний и анализа потомства.

Результаты рестрикционного анализа показали, что фрагмент размером 500 п.н. сохраняется при обработке эндонуклеазой BstNI вследствие отсутствия соответствующего сайта рестрикции. Согласно используемой системе маркерного анализа данный профиль соответствует рецессивному аллелю локуса, ассоциированного с Ph3. Напротив, наличие фрагментов размером около 240 и 260 п.н. свидетельствует о присутствии сайта рестрикции BstNI и соответствует альтернативному аллельному состоянию, ассоциированному с устойчивостью к фитофторозу (рис. 6).

Следует отметить, что близкие размеры продуктов рестрикции — 240 и 260 п.н. — могут затруднять их чёткое разделение при электрофоретическом анализе. Аналогичные особенности данного маркерного анализа отмечены Shekasteband et al. (2015), которые показали недостаточно чёткое разделение продуктов рестрикции. Вместе с тем наличие специфического сайта рестрикции позволяет использовать данный маркер для дифференциации аллельных вариантов исследуемого локуса. Полученные результаты также согласуются с данными, представленными К. К. Anselmo et al. (2016).

На основании характера полученных электрофореграмм растения Крб-1, Крб-2, Крб-3 и Крб-4, у которых одновременно выявлялись фрагменты 500, 240 и 260 п.н., были идентифицированы как гетерозиготные по исследуемому

локусу. Растения Кр6-5, Кр6-6, Кр6-7, Кр6-8, Кр6-9, Кр6-10, Кр6-11 и Кр6-12, характеризовавшиеся наличием только фрагмента размером 500 п.н., были отнесены к гомозиготному состоянию по соответствующему рецессивному аллелю.

При интерпретации результатов анализа маркеров R1 необходимо учитывать, что отсутствие амплификации не всегда свидетельствует об отсутствии функционального гена. Соколова и соавт. (2011), сопоставляя результаты молекулярного маркирования с фитопатологической оценкой, показали, что маркеры R1 могут не выявлять функциональные копии гена при наличии нуклеотидных замен в участках, комплементарных последовательностям используемых праймеров.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность применения маркера TG328 для идентификации аллельных вариантов локуса, сцепленного с геном Ph3, и его использования в качестве вспомогательного инструмента при проведении маркер-ориентированной селекции томата на устойчивость к фитофторозу. Вместе с тем окончательную оценку устойчивости целесообразно проводить на основании совокупности молекулярных и фенотипических данных.

С практической точки зрения перспективным направлением селекции является сочетание в одном генотипе нескольких генетических факторов устойчивости к *P. infestans*. В частности, комбинирование генов Ph2 и Ph3, а также других эффективных генов устойчивости потенциально может повысить стабильность проявления устойчивости. Однако эффективность таких комбинаций должна оцениваться с учётом генотипа растения, генетического фона и вирулентности используемых изолятов патогена.

Заключение

1. В результате скрининга 32 молекулярных маркеров 15 генов устойчивости (*Tm-2*, *Tm-2²*, *Cf-2/5*, *CF6*, *Ty-3/Ty-3a*, *Ty-2*, *I2*, *Ve*, *R1*, *R3a*, *Ph-3*, *SW5*, *Mi23* и *Ol1*) к 9 наиболее значимым заболеваниям томата (*L. esculentum*): фузариозу (возбудитель - *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*), вертициллезу (возбудитель - *Verticillium dahliae*), кладоспориозу (возбудитель - *Cladosporium fulvum*), фитофторозу (возбудитель - *Phytophthora infestans*), бронзовости (возбудитель - *Тосновир*ус бронзовости томата), нематодам (*Meloidogyne incognita*), мучнистой росе (возбудитель - *O. neolycopersici* sp. nov.), вирусу желтой курчавости листьев томата (возбудитель - *Бегомови*рус желтой курчавости листьев томата) и вирусу томатной мозаики (возбудитель - *вирус томатной мозаики*) - на генетической коллекции индетерминантного розовоплодного томата выявлен полиморфизм 18 молекулярных маркеров ассоциированных с 11 генами устойчивости (*I2*, *I2C-1* *Ve*, *Mi23*, *Tm-2²*, *Cf-2*, *Cf-5*, *Sw5*, *Ty-2*, *Ol-1* и *Ol-2*).
2. В результате скрининга генетической коллекции линий индетерминантного розовоплодного томата, представленной 16 линиями с функциональной мужской стерильностью и 3 фертильными линиями, с использованием 18 отобранных полиморфных молекулярных маркеров, ассоциированных с 10 генами устойчивости (*I2*, *Ve*, *Mi23*, *Tm-2²*, *Cf-2*, *Cf-5*, *Sw5*, *Ty-2*, *Ol-1* и *Ol-2*) произведена дифференциация линий по содержанию генов устойчивости: 1) у линий с функциональной мужской стерильностью Роз ст 0-1, Роз ст 1-3, Роз ст2(2), Роз ст3(3), Роз ст 4-431, Роз ст5(1), Роз ст6(3), Роз ст7(3), Роз ст 8-64, Роз ст 9(121), Роз ст 12(1), Роз ст 13(2), Роз ст 15(1), Роз ст 16(3), Роз ст 20(3), Роз ст 22(3) и у фертильной линии РБК1-251 выявлены гены устойчивости *I2*, *Ve*, *Mi2*, *Tm-2²*, *Cf-5*, *Sw5*, *TYLCV* и *Ol1*; у фертильной линии Клубка куба (КК) выявлены гены *I2-I2C-1* и *I2-I2C-1*, *Sw-5*, *Mi-2*; у фертильной линии 518-1133 - только ген *Mi2*.

3. Оценкой на инфекционном фоне устойчивости к фитофторозу генетической коллекции томата Кр-1 – Кр-14, представленной линиями F3 поколения, выявлен фенотипический полиморфизм реакции линий и расщепление по устойчивости/восприимчивости внутри линий: линия Кр-14, проявила полную устойчивость; линии Кр-4, Кр-6, Кр-7, Кр-9, Кр-10, Кр-12 имели расщепление по устойчивости/восприимчивости; линии Кр-1, Кр-2, Кр-5, Кр-8, Кр-11 проявили полную восприимчивость. Анализ расщепления устойчивости/восприимчивости растений позволил установить моногенный доминантный тип наследования устойчивости к фитофторозу линий томата. Молекулярно-генетическим исследованием расщепляющего потомства линии Кр-6 (Кр6-1 – Кр6-12) по генам устойчивости *Ph-3* выявлено, растения Кр6-1, Кр6-2, Кр6-3, Кр6-4 - гетерозиготы по гену *Ph-3/ph-3*.
4. В результате оценки комбинационной способности линий с функциональной мужской стерильностью установлены:
- максимальный положительный эффект ОКС по признаку «число листьев до первого соцветия» у линий Роз ст (12)4 ($gi = 0,96$ шт.), Роз ст 4-432, ($gi = 1,31$ шт.) и Роз ст 9-1 ($gi = 0,89$ шт.);
 - максимальный отрицательный эффект ОКС по признаку «продолжительность периода «всходы – начало цветения» у линий Роз ст3-23 и Роз ст 9-121 ($gi = -1,65$ суток), Роз ст 9-12 2017 ($gi = -1,98$ суток);
 - максимальный отрицательный эффект ОКС по признаку «продолжительность периода «всходы – начало созревания» у линий Роз ст 6-322 ($gi = -3,23$ суток), Роз ст 4-431 ($gi = -7,23$ суток), Роз ст3-23 ($gi = -2,23$ суток), Роз ст8-61($gi = -2,90$ суток);
 - максимальный положительный эффект ОКС по признаку «число плодов на одном растении» у линий Роз ст 6-322 ($gi=12,87$ шт.), Роз ст 3-11 ($gi=10,32$ шт.), и Роз ст 4-431 ($gi=22,76$ шт.);

- максимальный положительный эффект ОКС по признаку «масса товарных плодов на растение» у линий Роз ст 3-11($g_i = 0,77\text{кг}$), Роз ст 7-3 ($g_i = 0,77\text{кг}$) и Роз ст 4-432 ($g_i = 0,77\text{кг}$).

5. Изучение корреляции проявления признаков число листьев до первого соцветия (шт.), продолжительность периода «всходы-цветение» (сут.), продолжительность периода «всходы-созревание» (сут.), число плодов на растении (шт.), продуктивность (кг), с использованием данных испытания F1-гибридов позволило установить: положительную связь средней силы $r=0,58$ признаков «число плодов на растении» и «продолжительность периода «всходы-созревание»; связь в других сочетаниях признаков или отсутствовала, или была низкой, что свидетельствует о возможности комбинирования указанных признаков в желаемых сочетаниях.

6. На основании комплексного изучения хозяйственно ценных признаков, включавших число листьев до первого соцветия, продолжительность периодов «всходы–начало цветения» и «всходы–начало созревания», число плодов и массу товарных плодов на растении, выделены три перспективные гибридные комбинации индетерминантного розовоплодного томата — Роз ст (0-12) × РБК1-251, Роз ст 9-1 × РБК1-251 и Роз ст 4-431 × 518-1133. Установлено, что выделенные комбинации сочетают комплекс хозяйственно ценных признаков с групповой устойчивостью к основным патогенам и вредным организмам, контролируемой генами I_2 , Sw5, Ve, Tm-2², Cf-2/Cf-5, Mi-2, Ol-1 и Ty-3a, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования выделенных гибридных комбинаций в дальнейшей селекционной работе по созданию высокопродуктивных сортов и гибридов индетерминантного розовоплодного томата с групповой устойчивостью к комплексу вредоносных организмов.

Рекомендации для селекции и производства

1. Использовать для селекции индетерминантных розовоплодных томатов в качестве доноров групповой устойчивости фертильную линию РБК1-251 и линии с функциональной мужской стерильностью Роз ст 0-1, Роз ст 1-3, Роз ст2(2), Роз ст3(3), Роз ст 4-431, Роз ст5(1), Роз ст6(3), Роз ст7(3), Роз ст 8-64, Роз ст 9 (121), Роз ст 12(1), Роз ст 13(2), Роз ст 15(1), Роз ст 16(3), Роз ст 20(3), Роз ст 22 (3) содержащие гены устойчивости *I₂*, *Ve*, *Mi2*, *Tm-2²*, *Cf-5*, *Sw5*, *Ph-3*, *TYLCV* и *Oll*.

2. Использовать для селекции на устойчивость к фитофторозу (возбудитель - *Phytophthora infestans*) линию Кр-14 – донор моногенной доминантной устойчивости к фитофторозу, содержащей ген *Ph3*.

3. Перспективные гибридные комбинации Роз ст (0-12) × РБК1-251 Роз ст 9-1 × РБК1-251 и Роз ст 4-431 × 518-1133 рекомендуется передать на расширенное экологическое и производственное испытание с целью последующей государственной регистрации и внедрения в промышленное овощеводство.

Благодарность

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в соответствии с соглашением 075-15-2023-220 на поддержку программы развития университета «Приоритет-2030».

Автор выражает огромную признательность Сократу Григорьевичу Монахосу, заведующему кафедрой молекулярной селекции, клеточных технологий и семеноводства, директору Тимирязевского геномного центра, научному руководителю.

Григорию Федоровичу Монахосу, генеральному директору ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева» за предоставленные генетические коллекции линий томата и детализированное консультирование при проведении исследовательской работы.

Моим коллегам Юлие Соловьевой, Алексею Александровичу Миронову, Якову Тарасовичу Эйдлину, Екатерине Васильевне Осминине и Марие Вячеславовне, я говорю искреннее спасибо за их прием, их большую открытость, их чувство сопричастности, хорошее сотрудничество и их дружбу.

Всем сотрудникам лаборатории Генетики, селекции и биотехнологии овощных культур ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева за помощь, понимание и поддержку.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ФМС — функциональная мужская стерильность.

КС — комбинационная способность.

ОКС (g_i) — эффект общей комбинационной способности отцовской линии.

ОКС (g_j) — эффект общей комбинационной способности материнской линии.

СКС (s_{ij}) — эффект специфической комбинационной способности конкретной комбинации скрещивания.

$\sigma^2 s_i$ — дисперсия специфической комбинационной способности материнской линии.

$\sigma^2 s_j$ — дисперсия специфической комбинационной способности отцовской линии.

x_{ij} — фенотипическое значение исследуемого признака у i -й $\times$ j -й комбинации скрещивания.

e_{ijkl} — случайное отклонение, связанное с $ijkl$ индивидуальным наблюдением.

п.н. — пар нуклеотидов.

SCAR (*Sequence Characterized Amplified Region*) — маркер, основанный на амплификации охарактеризованного участка ДНК.

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

ПЦР — полимеразная цепная реакция.

χ^2 — критерий Пирсона (хи-квадрат).

R (*Resistant*) — устойчивый генотип.

S (*Susceptible*) — восприимчивый генотип.

Библиографический список

1. Аджиева, В.Ф. Создание комплекса ДНК-маркеров к генам томата, определяющим содержание каротиноидов и устойчивость к болезням и вредителям / В.Ф. Аджиева, З.Е. Грушецкая, С.В. Малышев, Н.А. Некрашевич, О.Г. Бабак, А.В. Кильчевский // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур, традиции и перспективы: сб. докладов II Международной научно-практической конференции (Москва, 02-04 августа 2010 г.). – Москва: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур, 2010. – Т. 2. – С. 47-59.
2. Ахатов, А.К. Мир томата глазами фитопатолога: монография / А.К. Ахатов. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 290 с.
3. Беспалова, Л.А. Применение молекулярных маркеров в селекции пшеницы в краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко / Л.А. Беспалова, А.В. Васильев, И.Б. Аблова, В.А. Филобок, Ж.Н. Худокормова, Р.О. Давоян, Э.Р. Давоян, Г.И. Карлов, А.А. Соловьев, М.Г. Дивашук, Н.К. Майер, М.В. Дудников, Н.В. Мироненко, О.А. Баранова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16., № 1. – С. 37-43.
4. Бороевич, С. Принципы и методы селекции растений: монография / С. Бороевич // под ред. А.К. Федорова. – Москва: Колос, 1984. – 344 с.
5. Грушецкая, З.Е. Создание молекулярных маркеров генов устойчивости к кладоспориозу томата / З.Е. Грушецкая, В.Д. Поликсенова, В.А. Лемеш, А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2007. – № 3. – С. 23-27.
6. Емелина, Н.Н. Современное состояние классификации возбудителя мучнистой росы томата в защищенном грунте (*Oidium neolycopersici*) / Н.Н. Емелина, Т.А. Терешонкова // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. – М.: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур, 2010. – Т. 1. – С. 286-290.

7. Игнатова, С.И. Роль наследственного потенциала по устойчивости у томата в системе комплексной защиты в закрытом грунте / С.И. Игнатова // Гавриш. – 2001. – № 6. – С. 18-20.
8. Кокаева, Л.Ю. Микобиота пораженных листьев *Solanum tuberosum* L., *S. lycopersicum* L. и *S. dulcamara* L.: автореф. на соиск. ученой степ. канд. биол. наук: 03.02.12 / Л.Ю. Кокаева // М. – 2016. – 22 с.
9. Куклев, М.Ю. Анализ локусов генов устойчивости томата к фузариозу и вертициллезу и создание на их основе ДНК маркеров: автореф. на соиск. ученой степ. канд. биол. наук. – Москва, 2007. – 14 с.
10. Куклев, М.Ю. Разработка флуоресцентной тест-системы для выявления устойчивых к вертициллезу форм томата / М.Ю. Куклев, И.А. Фесенко, Г.И. Карлов // Известия ТСХА. – 2006. – № 4. – С. 115-120.
11. Поликсенова, В.Д. Микозы томата: возбудители заболеваний, устойчивость растений: монография / В.Д. Поликсенова. – Минск: БГУ, 2008. – 159 с.
12. Положение дел в области продовольствия и сельского хозяйства. URL: fao.org/4/i3300r/i3300r00.html (дата обращения 06.11.2023).
13. Савченко, В.К. Многоцелевой метод количественной оценки комбинационной способности в селекции на гетерозис / В.К. Савченко // Генетика. – 1978. – №5. – С. 793-804.
14. Щербань, А.Б. Перспективы маркер-ориентированной селекции томата *Solanum lycopersicum* L. / А.Б. Щербань // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23, № 5. – С. 534-541.
15. Acciarri, N. Molecular markers for *Ve1* and *Ve2* Verticillium resistance genes from Italian tomato germplasm / N. Acciarri, G.L. Rotino, G. Tamietti, D. Valentino, S. Voltattorni, E. Sabatini // Plant Breeding. – 2007. – V. 126, № 6. – P. 617-621.
16. Agrama, H.A. Quantitative trait loci for tomato yellow leaf curl virus and tomato mottle virus resistance in tomato / H.A. Agrama, J.W. Scott // Journal of

the American Society for Horticultural Science. – 2006. – V. 131, № 2. – P. 267-272.

17. Agrios, G.N. Plant Pathology / G.N. Agrios. – Burlington: Elsevier Academic Press, 2004. – 952 p.

18. Alkowni, R. Molecular identification of tomato brown rugose fruit virus in tomato in Palestine / R. Alkowni, O. Alabdallah, Z. Fadda // Journal of Plant Pathology. – 2019. – V. 101. – P. 719-723.

19. Ammiraju, J.S.S. The heat-stable root-knot nematode resistance gene *Mi-9* from *Lycopersicon peruvianum* is localized on the short arm of chromosome 6 / J.S.S. Ammiraju, J.C. Veremis, X. Huang, P.A. Roberts, I. Kaloshian // Theoretical and Applied Genetics. – 2003. – V. 106, № 3. – P. 478-484.

20. Arens, P. Development and evaluation of robust molecular markers linked to disease resistance in tomato for distinctness, uniformity and stability testing / P. Arens, C. Mansilla, D. Deinum, L. Cavellini, A. Moretti, S. Rolland, H. van der Schoot, D. Calvache, F. Ponz, C. Collonnier, R. Mathis, D. Smilde, C. Caranta, B. Vosman // Theoretical and Applied Genetics. – 2010. – V. 120, № 3. – P. 655-664.

21. Azizinia, S. QTL mapping of tomato powdery mildew (*Oidium neolycopersici* l. kiss) resistance / S. Azizinia, H. Zeinali, A.A. Zali, S. Abdmishani // Seed and Plant Journal. – 2009. – V. 25, № 4. – P. 635-649.

22. Baergen, K.D. Resistance of tomato genotypes to four isolates of *Vericillium dahliae* Race 2 / K.D. Baergen, J.D. Hewitt, D.A. St. Clair // 1993. HortScience. – 1993. – V. 28. – P. 833-836.

23. 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 // Molecular Plant-Microbe Interactions. – 2003. – V. 16, № 2. – P. 169-176.

24. Bai, Y. Tomato defense to *Oidium neolycopersici*: dominant OI genes confer isolate-dependent resistance via a different mechanism than recessive oi-2 /

Y. Bai, R. van der Hulst., G. Bonnema, T. C Marcel, F. Meijer-Dekens, R. E Niks, P. Lindhout // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2005. – V. 18, № 4. – P. 354-362.

25. Barillas, A.C. CAPS and SCAR markers for detection of I-3 gene introgression for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 / A.C. Barillas, L. Mejia, A. Sanchez-Perez, D.P. Maxwell. // *Rep. Tomato. Genet. Coop.* – 2008. – V. 58. – P. 11-17.

26. Black, L.L. Late blight resistance in four wild tomato accessions: effectiveness in diverse locations and inheritance of resistance / L.L. Black, T.C. Wang, P.M. Hanson, J.T. Chen // *Phytopathology*. – 1996. – V. 86, № 11. – P. S24.

27. Boiteux, L.S. Screening *Lycopersicon* germplasm for resistance to a Brazilian isolate of spotted wilt virus (TSWV) / L.S. Boiteux, L. de B. Giordano // *Tomato Genetic Cooperative Report*. – 1992. – V. 42. – P. 13-14.

28. Boopathi, N.M. Recent Advances in MAS in Major Crops / N.M. Boopathi // *Genetic Mapping and Marker Assisted Selection: Basics, Practice and Benefits*. – New Delhi: Springer, 2013. – P. 245-280.

29. Brommonschenkel, S.H. Map-based cloning of the tomato genomic region that spans the Sw-5 tospovirus resistance gene in tomato / S.H. Brommonschenkel, S.D. Tanksley // *Molecular and General Genetics*. – 1997. – V. 256, № 2. – P. 121-126.

30. Brommonschenkel, S.H. The broad-spectrum tospovirus resistance gene Sw-5 of tomato is homolog of the root-knot nematode resistance gene *Mi* / S.H. Brommonschenkel, A. Frary, A. Tanksley // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2000. – V. 13. – P. 1130-1138.

31. Canady, M.A. Tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in tomato derived from *Lycopersicon chilense* Dun. LA 1938 / M.A. Canady, M.R. Stevens, M.S. Barineau, J.W. Scott // *Euphytica*. – 2001. – V. 117, № 1. – P. 19-25.

32. Cassol, T. Inheritance of resistance to blackmold (*Alternaria alternata* (Fr.) Keissler) in two interspecific crosses of tomato (*Lycopersicon esculentum* × *L.*

cheesmanii f. *typicum*) / T. Cassol, D.A. St. Clair // Theoretical and Applied Genetics. – 1994. – V. 88. – P. 581-588.

33. Chague, V. Identification and mapping on chromosome 9 of RAPD markers linked to Sw-5 in tomato by bulked segregant analysis / V. Chague, J.C. Mercier, M. Guenard, A. de Courcel, F. Vedel // Theoretical and Applied Genetics. – 1996. – V. 92. – P. 1045-1051.

34. Chanda, B. Effectiveness of disinfectants against the spread of tobamoviruses: *Tomato brown rugose fruit virus* and *Cucumber green mottle mosaic virus* / B. Chanda, M. Shamimuzzaman, A. Gilliard, K.S. Ling // Virology Journal. – 2021. – V. 18. – P. 7.

35. Chunwongse, J. Molecular mapping of the *Ph-3* gene for late blight resistance in tomato / J. Chunwongse, C. Chunwongse, P. Hanson, L. Black // The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2002. – V. 77, № 3. – P. 281-286.

36. 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. – 1998. – V. 47, № 4. – P. 417-419.

37. Cirulli, M. Influence of temperature and strain of tobacco mosaic virus on resistance in a tomato seedling line derived from *Lycopersicon peruvianum* // M. Cirulli, L.J. Alexander // Phytopathology. – 1969. – V. 59. – P. 1287-1297.

38. Dax, E. A random amplified polymorphic DNA (RAPD) molecular marker for the Tm-2^a gene in tomato / E. Dax, O. Livneh, O. Edelbaum, N. Kedar, N. Gavish, H. Karchi, J. Milo, I. Sela, H.D. Rabinowitch // Euphytica. – 1993. – V. 74. – P. 159-163.

39. Dax, E. A SCAR marker linked to the ToMV resistance gene, Tm2², in tomato / E. Dax, O. Livneh, E. Aliskevicius, O. Edelbaum, N. Kedar, N. Gavish, J. Milo, F. Geffen, A. Blumenthal, H.D. Rabinowich, I. Sela // Euphytica. – 1998. – V. 101. – P. 73-77.

40. De Miranda, B.E.C. Sources of resistance to *Verticillium dahliae* races 1 and 2 in accessions of *Solanum* (section *Lycopersicon*) / B.E.C. de Miranda,

L.S. Boiteux, E.M. Cruz, A. Reis // Horticultura Brasileira. – 2010. – V. 28, № 4. – P. 458-465.

41. Devran, Z. Analysis of genetic variation between populations of *Meloidogyne* spp. from Turkey / Z. Devran, M.A. Söğüt, U. Gözel, M. Tör, I.H. Elekcioglu // Russian Journal of Nematology. – 2008. – V. 16, № 2. – P. 143-149.

42. Dianese, E.C. Development of a locus-specific, co-dominant SCAR marker for assisted-selection of the Sw-5 (Tospovirus resistance) gene cluster in a wide range of tomato accessions / E.C. Dianese, M.E.N. de Fonseca, R. Goldbach, R. Kormelink, A.K. Inoue-Nagata, R.O. Resende, L. Boiteux // Molecular Breeding. – 2009. – V. 25, № 1. – P. 133-142.

43. Diwan, N. Mapping of *Ve* in tomato: a gene conferring resistance to the broad-spectrum pathogen, *Verticillium dahliae* race 1 / N. Diwan, R. Fluhr, Y. Ehsed, D. Zamir, S.D. Tanksley // Theoretical and Applied Genetics. – 1999. – V. 98. – P. 315-319.

44. 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, K. Harrison, J.D. Jones // The Plant Cell. – 1998. – V. 10, № 11. – P. 1915-1926.

45. Do Nascimento, I.R. Marker assisted identification of tospovirus resistant tomato genotypes in segregating progenies / I.R. do Nascimento, W.R. Maluf, A.R. Figueira, C.B. Menezes, J.T.V. de Resende, M.V. Faria, D.W. Nogueira // Scientia Agricola. – 2009. – V. 66, № 3. – P. 298-303.

46. Doganlar, S. Molecular mapping of the *py-1* gene for resistance to corky root rot (*Pyrenochaeta lycopersici*) in tomato / S. Doganlar, J. Dodson, B. Gabor, T. Beck-Bunn, C. Crossman, S.D. Tanksley // Theoretical and Applied Genetics. – 1998. – V. 97. – P. 784-788.

47. Doyle, J. DNA Protocols for Plants / J. Doyle // Molecular Techniques in Taxonomy. – Berlin, Heidelberg: Springer. – 1991. – P. 283-293.

48. Ekengren, S.K. Cutting the Gordian knot: taking a stab at corky root rot of tomato / S.K. Ekengren // Plant Biotechnology. – 2008. – V. 25, № 3. – P. 265-269.
49. El Mohtar, C.A. Marker-assisted selection of tomato genotypes with the *I-2* gene for resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 2 / C.A. El Mohtar, H.S. Atamian, R.B. Dagher, Y. Abou-Jawdah, M.S. Salus, D.P. Maxwell // Plant Disease. – 2007. – V. 91, № 6. – P. 758-762.
50. Ercolano, M.R. Genetic and genomic approaches for R-gene mediated disease resistance in tomato: retrospects and prospects / M.R. Ercolano, W. Sanseverino, P. Carli, F. Ferriello, L. Frusciante // Plant Cell Reports. – 2012. – V. 31, № 6. – P. 973-985.
51. Fazio, G. Identification of RAPD markers linked to fusarium crown and root rot resistance (*Frl*) in tomato / G. Fazio, M.R. Stevens, and J.W. Scott // Euphytica. – 1999. – V. 105, № 3. – P. 205-210.
52. Foolad, M.R. Comparison of field, greenhouse, and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance / M.R. Foolad, N. Ntahimpera, B.J. Christ, G.Y. Lin // Plant Disease. – 2000. – V. 84, № 9. – P. 967-972.
53. Foolad, M.R. Genetics, genomics and breeding of late blight and early blight resistance in tomato / M.R. Foolad, H.L. Merk, H. Ashrafi // Critical Reviews in Plant Sciences. – 2008. – V. 27, № 2. – P. 75-107.
54. Foolad, M.R. Genetics of early blight resistance in tomato / M.R. Foolad, A. Sharma, H. Ashrafi, G.Y. Lin // Acta Horticulturae. – 2005. – V. 695. – P. 397-406.
55. Foolad, M.R. Genome mapping and molecular breeding of tomato / M.R. Foolad // International Journal of Plant Genomics. – 2007. – V. 2, I. 64358. – 52 p.
56. Foolad, M.R. Heritability of early blight resistance in a *Lycopersicon esculentum* x *Lycopersicon hirsutum* cross estimated by correlation between parent

and progeny / M.R. Foolad, G.Y. Lin // Plant Breeding. – 2008. – V. 120, № 2. – P. 173-177.

57. Foolad, M.R. Identification of QTLs for early blight (*Alternaria solani*) resistance in tomato using backcross populations of a *Lycopersicon esculentum* x *L. hirsutum* cross / M.R. Foolad, L.P. Zhang, A.A. Khan, D. Nino-Liu, G.Y. Lin // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – V. 104, № 6-7. – P. 945-958.

58. Foolad, M.R. Marker-assisted selection in tomato breeding / M.R. Foolad, D.R. Panthee // Critical Reviews in Plant Sciences. – 2012. – V. 31, I. 2. – P. 93-123.

59. Fradin, E.F. Genetic dissection of *Verticillium* wilt resistance mediated by tomato *Ve1* / E.F. Fradin, Z. Zhang, J.C. Juarez Ayala, C.D.M. Castroverde, R.N. Nazar, J. Robb, and C.M. Liu, B.P.H.J. Thomma // Plant Physiology. – 2009. – V. 150, № 1. – P. 320-332.

60. Gallegly, M.E. Resistance to the late blight fungus in tomato / M.E. Gallegly // Proceedings of Plant Science Seminar. – Camden: Campbell Soup Company, 1960. – P. 113-135.

61. Garcia, B.E. Co-dominant SCAR marker for detection of the begomovirus-resistance *Ty-2* locus derived from *Solanum habrochaites* in tomato germplasm / B.E. Garcia, E. Graham, K.S. Jensen, P. Hanson, L. Mejia, D.P. Maxwell // Tomato Genetic Cooperative Report. – 2007. – V. 57. – P. 21-24.

62. Gardner, R.G. Greenhouse disease screen facilitates breeding resistance to tomato early blight / R.G. Gardner // HortScience. – 1990. – V. 25, I. 2. – P. 222-223.

63. Gardner, R.G. NC 109 tomato breeding line: «Mountain Fresh» F₁ hybrid / R.G. Gardner // HortScience. – 1999. – V. 34, № 5. – P. 941-942.

64. Gardner, R.G. NC EBR-1 and NC EBR-2 early blight resistant tomato breeding lines / R.G. Gardner // HortScience. – 1988. – V. 23, № 4. – P. 779-781.

65. Garland, S. The development of an improved PCR-based marker system for *Sw-5*, an important *TSWV* resistance gene of tomato / S. Garland,

M. Sharman, D.M. Persley, D. McGrath // Australian Journal of Agricultural Research. – 2005. – V. 56, № 3. – P. 285-289.

66. Gebhardt, S.E. Nutritive value of foods / S.E. Gebhardt, R.G. Thomas // Home and Garden Bulletin. – 2002. – V. 72. – P. 1-72.

67. German, T.L. Tospoviruses: diagnosis, molecular biology, phylogeny, and vector relationships / T.L. German, D.E. Ullman, J.W. Moyer // Annual Review of Phytopathology. – 1992. – V. 30. – P. 315-348.

68. Goodwin, S.B. Use of cellulose-acetate electrophoresis for rapid identification of allozyme genotypes of *Phytophthora infestans* / S.B. Goodwin, R.E. Schneider, W.E. Fry // Plant Disease. – 1995. – V. 79. – P. 1181-1185.

69. Griffing, B. A generalised treatment of the use of diallel cross in quantitative inheritance / B. Griffing // Heredity. – 1956. – V. 10. – P. 31-50.

70. Grushetskaya, Z.E. Mapping of the Cf-6 tomato leaf mould resistance locus using SSR markers / Z.E. Grushetskaya, V.A. Lemesh, V.D. Poliksenova, L.V. Khotyleva // Russian Journal of Genetics. – 2007. – V. 43, № 11. – P. 1266-1270.

71. Hanson, P. Conventional and molecular marker-assisted selection and pyramiding of genes for multiple disease resistance in tomato / P. Hanson, S.F. Lu, J.F. Wang, W. Chen, L. Kenyon, C.W. Tan, K.L. Tee, Y.Y. Wang, Y.C. Hsu, R. Schafleitner, D. Ledesma, R.Y. Yang // Scientia Horticulturae. – 2016. – V. 201. – P. 346-354.

72. Hemming, M.N. Fine mapping of the tomato I-3 gene for fusarium wilt resistance and elimination of a co-segregating resistance gene analogue as a candidate for I-3 / M.N. Hemming, S. Basuki, D.J. McGrath, B.J. Carroll, D.A. Jones // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – V. 109. – P. 409-418.

73. Hogenboom, N.G. Inheritance of resistance to corky root in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / N.G. Hogenboom // Euphytica. – 1970. – V. 19. – P. 413-425.

74. Huang, C.C. Development of diagnostic PCR markers closely linked to the tomato powdery mildew resistance gene Ol-1 on chromosome 6 of tomato /

C.C. Huang, Y.Y. Cui, C.R. Weng, P. Zabel, P. Lindhout // Theoretical and Applied Genetics. – 2000. – V. 101, № 5. – P. 918-924.

75. Ivanova, B. Sources of resistance in wild species of genus *Lycopersicon* to *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* race 0, 1 and *Xanthomonas vesicatoria* race T1, T3 / B. Ivanova, N. Bogatsevska // Plant Science. – 2007. – V. 44. – P. 424-429.

76. Ji, Y. Co-dominant SCAR markers for detection of the *Ty-3* and *Ty-3a* loci from *Solanum chilense* at 25 cM of chromosome 6 of tomato / Y. Ji, M.S. Salus, B. van Betteray, J. Smeets, K.S. Jensen, C.T. Martin, L. Mejia, J.W. Scott, M.J. Havey, D.P. Maxwell // Tomato Genetic Cooperative Report. – 2007. – V. 57. – P. 25-28.

77. Ji, Y. Molecular mapping of *Ty-4*, a new tomato yellow leaf curl virus resistance locus on chromosome 3 of tomato / Y. Ji, Schuster, J.W. Scott, D. Maxwell // Journal of the American Society for Horticultural Science. – 2009. – V. 134, № 2. – P. 281-288.

78. Ji, Y. Toward fine mapping of the tomato yellow leaf curl virus resistance gene *Ty-2* on chromosome 11 of tomato / Y. Ji, J.W. Scott, D.J. Schuster // HortScience. – 2009. – V. 44, № 3. – P. 614-618.

79. 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, D.J. Schuster, J.W. Scott // Molecular Breeding. – 2007. – V. 20, № 3. – P. 271-284.

80. Jones J. B. *Compendium of Tomato Diseases and Pests.* / Zitter T. A., Momol T. M., Miller S. A. (eds.). – 2016. 2nd ed. St. Paul, MN: APS Press.

81. Kawchuk, L.M. Development of sequence characterized DNA markers linked to a dominant Verticillium wilt resistance gene in tomato / L.M. Kawchuk, J. Hachey, D.R. Lynch // Genome. – 1998. – V. 41, № 1. – P. 91-95.

82. Kawchuk, L.M. Identification of a codominant amplified polymorphic DNA marker linked to the verticillium wilt resistance gene in tomato / L.M. Kawchuk, D.R. Lynch, J. Hachey, P.S. Bains, F. Kulcsar // Theoretical and Applied Genetics. – 1994. – V. 89. – P. 661-664.

83. Kawchuk, L.M. Tomato *Ve* disease resistance genes encode cell surface-like receptors / L.M. Kawchuk, J. Hachey, D.R. Lynch, F. Kulcsar, G. van Rooijen, D.R. Waterer, A. Robertson, E. Kokko, R. Byers, R.J. Howard, R. Fischer, D. Prufer // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2001. – V. 98, № 11. – P. 6511-6515.
84. Kim, M.J. 2005. Transfer to processing tomato and characterization of late blight resistance derived from *Solanum pimpinellifolium* L. L3708 / M.J. Kim, M.A. Mutschler // *Journal of the American Society for Horticultural Science*. – 2005. – V. 130, №6. – P. 877-884.
85. Lanfermeijer, F.C. The products of the broken *Tm-2* and the durable *Tm-2²* resistance genes from tomato differ in four amino acids / F.C. Lanfermeijer, J. Warmink, J. Hille // *Journal of Experimental Botany*. – 2005. – V. 56, № 421. – P. 2925-2933.
86. Langella, R. Molecular marker assisted transfer of resistance to TSWV in tomato elite lines / R. Langella, M.R. Ercolano, L.M. Monti, L. Frusciante, A. Barone // *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2004. – V. 79, № 5. – P. 806-810.
87. Laterrot, H. La lutte genetique contre la maladie des racines liegueses de la tomate / H. Laterrot // *Horticultural Reviews*. – 1983. – V. 238. – P. 143-150.
88. Lee, S.J. A functional screen to characterize the secretomes of eukaryotic pathogens and their hosts in planta / S.J. Lee, B.S. Kelley, C.M.B. Damasceno, B.S. John, B.S. Kim, B.D. Kim, J.K.C. Rose // *Molecular Plant-Microbe Interactions*. – 2006. – V. 19. – P. 1368-1377.
89. Levitzky, N. The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes / N. Levitzky, E. Smith, O. Lachman, N. Luria, Y. Mizrahi, H. Bakelman, N. Sela, O. Laskar, E. Milrot, A. Dombrovsky // *PLoS ONE*. – 2019. – V. 14, № 1. – P. 1-13.
90. Lim, G.T.T. Mapping the *I-3* gene for resistance to Fusarium wilt in tomato: application of an *I-3* marker in tomato improvement and progress towards

the cloning of *I-3* / G.T.T. Lim, G.P. Wang, M.N. Hemming, S. Basuki, D.J. McGrath, B.J. Carroll, D.A. Jones // *Australasian Plant Pathology*. – 2006. – V. 35. – P. 671-680.

91. Lukyanenko, A.N. Disease resistance in tomato / A.N. Lukyanenko // *Genetic improvement of tomato*. – Berlin, Heidelberg: Springer, 1991. – P. 99-119.

92. Luria, N. A new Israeli Tobamovirus isolate infects tomato plants harboring *Tm-2²* resistance genes / N. Luria, E. Smith, V. Reingold, I. Bekelman, M. Lapidot, I. Levin, N. Elad, Y. Tam, N. Sela, A. Abu-Ras, N. Ezra, A. Haberman, L. Yitzhak, O. Lachman, A. Dombrovsky // *PLoS ONE*. – 2017. – V. 12, № 1. – P. 1-19.

93. Matsuda, Y. Screening of wild *Lycopersicon* species for resistance to Japanese isolate of tomato powdery mildew *Oidium neolycopersici* / Y. Matsuda, Y. Mori, Y. Sakano, M. Nishida, K. Tarumoto, T. Nonomura, H. Nishimura, S. Kusakari, H. Toyoda // *Breeding Science*. – 2005. – V. 55. – P. 355-360.

94. Medina Filho, H.P. Tomato breeding for nematode resistance: survey of resistant varieties for horticultural characteristics and genotype of acid phosphates / H.P. Medina Filho, M.A. Stevens // *Acta Horticulturae*. – 1980. – V. 100. – P. 383-394.

95. Menzel, W. First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany / W. Menzel, D. Knierim, S. Winter, J. Hamacher, M. Heupel // *New Disease Reports*. – 2019. – V. 39, № 1. – P. 1.

96. Mesbah, L.A.. Genetic and physical analysis of a YAC contig spanning the fungal disease resistance locus *Asc* of tomato (*Lycopersicon esculentum*) / L.A. Mesbah, T.J.A. Kneppers, F.L.W. Takken, P. Laurent, J. Hille, H.J.J. Nijkamp // *Molecular and General Genetics*. – 1999. – V. 261, № 1. – P. 50-57.

97. Meshi, T. Mutations in the tobacco mosaic virus 30-kD protein gene overcome *Tm-2* resistance in tomato / T. Meshi, F. Motoyoshi, T. Maeda, S. Yoshiwoka, Y. Watanabe, Y. Okada // *The Plant Cell*. – 1989. – V. 1, № 5. – P. 515-522.

98. Meshi, T. Two concomitant base substitutions in the putative replicase genes of tobacco mosaic virus confer the ability to overcome the effects of a tomato resistance gene, *Tm-1* / T. Meshi, F. Motoyoshi, A. Adachi, Y. Watanabe, N. Takamatsu, Y. Okada // EMBO Journal. – 1988. – V. 7, № 6. – P. 1575-1581.
99. Mieslerova, B. Taxonomy, distribution and biology of the tomato powdery mildew (*Oidium lycopersici*) / B. Mieslerova, A. Lebeda // Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. – 1999. – V. 106. – P. 140-157.
100. Moreau, P. Genetic mapping of *Ph-2*, a single locus controlling partial resistance to *Phytophthora infestans* in tomato / P. Moreau, P. Thoquet, J. Olivier, H. Laterrot, N. Grimsley // Molecular Plant-Microbe Interactions. – 1998. – V. 11, № 4. – P. 259-269.
101. Mullis, K.B. The unusual origin of the polymerase chain reaction / K.B. Mullis // Scientific American. – 1990. – V. 262, № 4. – P. 56-61.
102. Mutlu, N. Development of SRAP, SRAP-RGA, RAPD and SCAR markers linked with a Fusarium wilt resistance gene in eggplant / N. Mutlu, F.H. Boyaci, M. Gocmen, K. Abak // Theoretical and Applied Genetics. – 2008. – V. 117, № 8. – P. 1303-1312.
103. Ohmori, T. Molecular characterization of RAPD and SCAR markers linked to the *Tm-1* locus in tomato / T. Ohmori, M. Murata, F. Motoyoshi // Theoretical and Applied Genetics. – 1996. – V. 92, № 2. – P. 151-156.
104. Ojiewo, C.O. Development and release of late blight-resistant tomato varieties «Meru» and «Kiboko» / C.O. Ojiewo, I.S. Swai, M.O. Olouch, D. Silué, R. Nono-Womdim, P. Hanson, L. Black, T.C. Wang // International Journal of Vegetable Science. – 2010. – V. 16, № 2. – P. 134-147.
105. Ori, N. The I2C family from the wilt disease resistance locus *I2* belongs to the nucleotide binding, leucine-rich repeat superfamily of plant resistance genes / N. Ori, Y. Eshed, I. Paran, G. Presting, D. Aviv, S. Tanksley, D. Zamir, R. Fluhr // The Plant Cell. – 1997. – V. 9, № 4. – P. 521-532.
106. Panno, S. Emergence of tomato leaf curl New Delhi virus in Italy: estimation of incidence and genetic diversity / S. Panno, A.G. Caruso, E. Troiano,

M. Luigi, A. Manglli, T. Vatrano, G. Iacono, S. Marchione, S. Bertin, L. Tomassoli, G. Parrella, S. Davino // Plant Pathology. – 2018. – V. 68, № 3. – P. 601-608.

107. Panno, S. Spread of Tomato brown rugose fruit virus in Sicily and evaluation of the spatiotemporal dispersion in experimental conditions / S. Panno, A.G. Caruso, S. Barone, G. Lo Bosco, E.A. Rangel, S. Davino // Agronomy. – 2020. – V. 10, № 6. – P. 1-14.

108. Park, Y. Development of gene-based DNA marker for verticillium wilt resistance in tomato / Y. Park, Y.J. Lee, J.S. Kang, Y.W. Choi, B.G. Son // Korean Journal of Horticultural Science and Technology. – 2008. – V. 26, № 3. – P. 313-319.

109. Peirce, L.C. Linkage tests with *Ph* conditioning resistance to race 0, *Phytophthora infestans* / L.C. Peirce // Tomato Genetics Cooperation Report. – 1971. – V. 21. – P. 30.

110. Perez, A. Identification of a CAPS marker tightly linked to the Tomato yellow leaf curl disease resistance gene *Ty-1* in tomato / A. Perez, J.M. Blanca, M.J. Diez, F.N. Vinals // European Journal of Plant Pathology. – 2007. – V. 117, № 4. – P. 347-356.

111. Perez, A. Inheritance of Tomato yellow leaf curl virus resistance derived from *Solanum pimpinellifolium* UPV16991 / A. Perez, M.J. Diez, F. Nuez // Plant Disease. – 2007. – V. 91, № 7. – P. 879-885.

112. Pilowsky, M. Screening additional wild tomatoes for resistance to the whitefly-borne tomato yellow leaf curl virus / M. Pilowsky, S. Cohen // Acta Physiologiae Plantarum. – 2012. – V. 22, № 3. – P. 351-353.

113. Price, D.L. Identification of molecular markers linked to a new Tomato spotted wilt virus resistance source in tomato using AFLP analysis / D.L. Price, F.D. Memmott, A. Hollingworth, J.W. Scott, M.R. Stevens // Hortscience. – 2007. – V. 42, № 4. – P. 855-855.

114. [Production mondiale de tomates en 2020. // Hortmedia. URL: https://hor-timedia.ma/production-mondiale-de-tomates-en-2020](https://hor-timedia.ma/production-mondiale-de-tomates-en-2020) (датаобращения: 16.10.2022).

115. Pule, B.B. *Phytophthora infestans* populations in central, eastern and southern African countries consist of two major clonal lineages / B.B. Pule, J.C. Meitz, A.H. Thompson, C.C. Linde, W.E. Fry, S.D. Langenhoven, K.L. Meyers, D.S. Kandolo, N.C. van Rij, A. McLeod // Plant Pathology. – 2013. – V. 62. – P. 154-165.
116. Rao, A.V. Carotenoids and human health / A.V. Rao, L.G. Rao // Pharmacological Research. – 2007. – V. 55, № 3. – P. 207-216.
117. Rizzo, D. Rapid and sensitive detection of tomato brown rugose fruit virus in tomato and pepper seeds by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assays (real time and visual) and comparison with RT-PCR end-point and RT-qPCR methods / D. Rizzo, D. Da Lio, A. Panattoni, C. Salemi, G. Cappellini, L. Bartolini, G. Parrella // Frontiers in Microbiology. – 2021. – V. 12, № 640932. – P. 1-13.
118. Robbins, M.D. Marker-assisted selection for coupling phase resistance to tomato spotted wilt virus and *Phytophthora infestans* (late blight) in tomato / M.D. Robbins, M.A.T. Masud, D. Panthee, R.G. Gardner, D. Francis, M.R. Stevens // HortScience. – 2010. – V. 45, № 10. – P. 1424-1428.
119. Robert, V.J.M. Marker-assisted introgression of blackmold resistance QTL alleles from wild *Lycopersicon cheesmanii* to cultivated tomato (*L. esculentum*) and evaluation of QTL phenotypic effects / V.J.M. Robert, M.A.L. West, S. Inai, A. Caines, L. Arntzen, J.K. Smith, D.A. St. Clair // Molecular Breeding. – 2001. – V. 8, № 3. – P. 217-233.
120. Roberts, P.A. *Meloidogyne incognita* resistance characteristics in tomato genotypes developed for processing / P.A. Roberts, D. May // Journal of Nematology. – 1986. – V. 18, № 3. – P. 353-358.
121. Rosello, S. Genetics of tomato spotted wilt virus resistance coming from *Lycopersicon peruvianum* / S. Rosello, M.J. Diez, F. Nuez // European Journal of Plant Pathology. – 1998. – V. 104, № 5. – P. 499-509.
122. 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. Ricarte, M.J. Diez, F. Nuez // *Euphytica*. – 2001. – V. 119, № 3. – P. 357-367.

123. Саиди, М. Селекция томатов на устойчивость к вирусу пятнистого увядания томатов (TSWV): обзор традиционных и молекулярных подходов. Czech J. , Варад, С. Д. – 2008 // *Genet. Plant Breed*. 44: 83–92.

124. Salem, N.M. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan / N. Salem, A. Mansour, M. Ciuffo, B.W. Falk, M. Turina // *Archives of Virology*. – 2016. – V. 161, 2. – P. 503-506.

125. Salem, N.M. Localization and mechanical transmission of Tomato brown rugose fruit virus in tomato seeds / N.M. Salem, A. Sulaiman, N. Samarah, M. Turina, M. Vallino // *Plant Disease*. – 2021. – V. 106, № 1. – P. 275-281.

126. Sarfatti, M. An RFLP marker in tomato linked to the *Fusarium oxysporum* resistance gene *I2* / M. Sarfatti, J. Katan, R. Fluhr, D. Zamir // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1989. – V. 78, № 5. – P. 755-759.

127. Scott, J.W. Breeding for resistance to viral pathogens / J.W. Scott // *Genetic improvement of solanaceous crops*. – Enfield: Science Publishers. – V. 2. – P. 457-485.

128. Scott, J.W. Fla. 7775 and Fla. 7781: tomato breeding lines resistant to *Fusarium* crown and root rot / J.W. Scott, J.P. Jones // *HortScience*. – 2000. – V. 35, № 6. – P. 1183-1184.

129. Scott, J.W. Fresh market tomato breeding in the USA / J.W. Scott // *Acta Horticulturae*. – 2008. – V. 789. – P. 21-25.

130. Seah, S. Evaluation of a co-dominant SCAR marker for detection of the *Mi-1* locus for resistance to root-knot nematode in tomato germplasm / S. Seah, V.M. Williamson, B.E. Garcia, L. Mejia, M.S. Salus, C.T. Martin, D.P. Maxwell // *Tomato Genetic Cooperation Report*. – 2007. – V. 57. – P. 37-40.

131. Shi, A. Identification of molecular markers for Sw-5 gene of tomato spotted wilt virus resistance / A. Shi, R. Vierling, R. Grazzini, P. Chen, H. Caton, D. Panthee // *American Journal of Biotechnology and Molecular Sciences*. – 2011. – V. 1, № 1. – P. 8-16.

132. Šimkovicová, M. Tomato R-gene- mediated resistance against Fusarium wilt originates in roots and extends to shoots via xylem to limit pathogen colonization / G. Karmer, M. Rep, F.L.W. Takken // *Frontiers in plant Science* – 2024. – V.15. – P. 1384431.
133. Smiech, M. New RAPD markers of tomato spotted wilt virus (TSWV) resistance in *Lycopersicon esculentum* Mill. / M. Smiech, Z. Rusinowski, S. Malepszy, K. Niemirowicz-Szczytt // *Acta Physiologiae Plantarum*. – 2000. – V. 22. – P. 299-303.
134. Sobir, S. Molecular characterization of the SCAR markers tightly linked to the *Tm-2* locus of the genus *Lycopersicon* / S. Sobir, T. Ohmori, M. Murata, F. Motoyoshi // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2000. – V. 101, № 1. – P. 64-69.
135. Sokolova, E. SCAR markers of the R-genes and germplasm of wild *Solanum* species for breeding late blight-resistant potato cultivars / E. Sokolova, A. Pankin, M. Beketova, M. Kuznetsova, S. Spiglazova, E. Rogozina, I. Yashina, E. Khavkin // *Plant Genetic Resources: Characterisation and Utilisation*. – 2011. – V. 9, № 2. – P. 309-312.
136. Spassova, M.I. The tomato gene *Sw5* is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco / M.I. Spassova, T.W. Prins, R.T. Folkertsma, R.M. Klein-Lankhorst, J. Hille, R.W. Goldbach, M. Prins // *Molecular Breeding*. – 2001. – V. 7, № 2. – P. 151-161.
137. Stamova, L. Resistance to *Verticillium dahliae* Race 2 and its introgression into processing tomato cultivars / L. Stamova // *Acta Horticulturae*. – 2005. – V. 695. – P. 257-262.
138. Stevens, M.R. A new dominantly inherited source of TSWV resistance in tomato derived from *L. chilense*, which resists isolates that overcome *Sw-5* / M.R. Stevens, J.W. Scott, J.J. Cho, B.D. Geary, F.D. Memmott // *HortScience*. – 2006. – V. 41, № 4. – P. 967.

139. Stevens, M.R. Mapping the Sw-5 locus for tomato spotted wilt virus resistance in tomatoes using RAPD and RFLP analyses / M.R. Stevens, E. Lamb, D.D. Rhoads // Theoretical and Applied Genetics. – 1995. – V. 90, № 3-4. – P. 451-456.
140. Stommel, J.R. Molecular markers linked to quantitative trait loci for anthracnose resistance in tomato / J.R. Stommel, Y. Zhang // HortScience. – 1998. – V. 33, № 3. – P. 514.
141. Tanksley, S.D. High density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes / S.D. Tanksley, M.W. Ganai, J.P. Prince, M.C. de Devicente, M.W. Bonierbale, P. Broun, T.M. Fulton, J.J. Giovannoni, S. Grandillo, G.B. Martin, R. Messeguer, J.C. Miller, L. Miller, A.H. Paterson, O. Pineda, M.S. Roder, R.A. Wing, W. Wu, N.D. Young // Genetics. – 1993. – V. 132, № 4. – P. 1141-1160.
142. Tanksley, S.D. Molecular markers in plant breeding / S.D. Tanksley // Plant Molecular Biology Reporter. – 1983. – V. 1. – P. 3-8.
143. Tanyolac, B. Screening of resistance genes to fusarium root rot and fusarium wilt diseases in F3 family lines of tomato (*Lycopersicon esculentum*) using RAPD and CAPs markers / B. Tanyolac, C. Akkale // African Journal of Biotechnology. – 2010. – V. 9, № 19. – P. 2727-2730.
144. Tomato market: report, production and industry size. URL: <https://www.mordorintelligence.com/fr/industry-reports/tomato-market> (дата обращения 15.11.2023).
145. Vakalounakis, D.J. Linkage between *Frl* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* resistance) and *Tm-2* (tobacco mosaic virus resistance-2) loci in tomato (*Lycopersicon esculentum*) / D.J. Vakalounakis, H. Laterrot, A. Moretti, E.K. Ligoixakis, K. Smardas // Annals of Applied Biology. – 1997. – V. 130, № 2. – P. 319-323.
146. Van der Beek, J.G. Resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum*) in *Lycopersicon hirsutum* is controlled by an incompletely-dominant

gene *OI-1* on chromosome 6 / J.G. Van der Beek, G. Pet, P. Lindhout // Theoretical and Applied Genetics. – 1994. – V. 89, № 4. – P. 467-473.

147. Van der Biezen, E.A. Inheritance and genetic mapping of resistance to *Alternaria alternata* f.sp. *lycopersici* in *Lycopersicon pennellii* / E.A. Van der Biezen, T. Glagotskaya, B. Overduin, H.J.J. Nijkamp, J. Hille // Molecular and General Genetics. – 1995. – V. 247, № 4. – P. 453-461.

148. Van der Biezen, E.A. Molecular-genetic characterization of the *Asc* locus of tomato conferring resistance to the fungal pathogen *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici* / E.A. Van der Biezen, B. Overduin, T.J.A. Kneppers, L.A. Mesbah, H.J.J. Nijkamp, J. Hille // Euphytica. – 1994. – V. 79. – P. 205-217.

149. Van Ooijen, G. Structure and function of resistance proteins in solanaceous plants / G. van Ooijen, H.A. van den Burg, B.J.C. Cornelissen, F.L.W. Takken // Annual Review of Phytopathology. – 2007. – V. 45. – P. 43-72.

150. Vidavski, F. Pyramiding of genes conferring resistance to Tomato yellow leaf curl virus from different wild tomato species / F. Vidavski, H. Czosnek, S.D. Gazit, D. Levy, M. Lapidot // Plant Breeding. – 2008. – V. 127, № 6. – P. 625-631.

151. Wang, A. Development of molecular markers linked to *Cladosporium fulvum* resistant gene *Cf-6* in tomato by RAPD and SSR methods / A. Wang, F. Meng, X. Xu, Y. Wang, J. Li // HortScience. – 2007. – V. 42, № 1. – P. 11-15.

152. Williamson, V.M. A PCR-based marker tightly linked to the nematode resistance gene, *Mi*, in tomato / V.M. Williamson, J.Y. Ho, F.F. Wu, N. Miller, I. Kaloshian // Theoretical and Applied Genetics. – 1994. – V. 87. – P. 757-763.

153. Witsenboer, H.M. Tomato resistance to *Alternaria* stem canker: localization in host genotypes and functional expression compared to non-host resistance / H.M. Witsenboer, E.G. van de Griend, J.B. Tiersma, H.J.J. Nijkamp, J. Hille // Theoretical and Applied Genetics. – 1989. – V. 78, № 4. – P. 457-462.

154. 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 // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2005. – V. 274, № 1. – P. 60-69.

155. Yang, W. Mining tomato genome sequence databases for molecular markers: Application to bacterial resistance and marker assisted selection / W. Yang, S.A. Miller, J.W. Scott, J.B. Jones, D. Francis // *Acta Horticulturae*. – 2005. – V. 695. – P. 241-250.

156. Yu, S.C. A co-dominant molecular marker of fusarium wilt resistance gene *I-2* derived from gene sequence in tomato / S.C. Yu, Y.M. Zou // *Hereditas* (Beijing). – 2008. – V. 30, № 7. – P. 926-932.

157. Zamir, D. Mapping and introgression of a tomato yellow leaf curl virus tolerance gene, *Ty-1* / D. Zamir, I. Ekstein-Michelson, Y. Zakay, N. Navot, M. Zeidan, M. Sarfatti, Y. Eshed, E. Harel, T. Pleban, H. van-Oss, N. Kedar, H.D. Rabinowitch, H. Czosnek // *Theoretical and Applied Genetics*. – 1994. – V. 88, № 2. – P. 141-146.

158. Atanassova B. Functional male sterility (*ps-2*) in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and its application in breeding and hybrid seed production // *Euphytica*. — 1999. — Vol. 107. — P. 13–21. — DOI: 10.1023/A:1003527714805.

159. Chase C.D. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial-nuclear interactions // *Trends in Genetics*. — 2007. — Vol. 23, No. 2. — P. 81–90. — DOI: 10.1016/j.tig.2006.12.004.

160. Male sterility and fertility restoration in crops // *Annual Review of Plant Biology*. — 2014. — Vol. 65. — P. 579–606. — DOI: 10.1146/annurev-arplant-050213-040119.

161. Gorguet B., Schipper D., van Lammeren A., Visser R.G.F., van Heusden A.W. High-resolution fine mapping of *ps-2*, a mutated gene conferring functional male sterility in tomato due to non-dehiscent anthers // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2006. — Vol. 113. — P. 1437–1448. — DOI: 10.1007/s00122-006-0389-9.

162. Gorguet B., Schipper D., van Lammeren A., Visser R.G.F., van Heusden A.W. *ps-2*, the gene responsible for functional sterility in tomato, due to non-dehiscent anthers, is the result of a mutation in a novel polygalacturonase gene // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2009. — Vol. 118. — P. 1199–1209. — DOI: 10.1007/s00122-009-0974-9.

Приложение I. Состав различных реакционных смесей и различные условия проведения ПЦР для оптимизации условий проведения ПЦР

Праймеры	Реакционны е смеси	Смеси . 2 (10Мкл) Фесенко, (2007)	Смеси . 3 (10 Мкл)	Смеси . 6 (10Мкл)	Праймеры	Реакционны е смеси	Смеси 1 (10Мкл) Ainong Shi (2011)	Смеси .4 (10 Мкл)	Смеси . 5 (10 Мкл)	Праймеры	Реакционные смеси	Смеси . 1 (10 Мкл) do Nascimento (2009)	Смеси 4 (10 Мкл)	Смеси 5 (10 Мкл)
LR1/LR2	Вода	3	2,25	4,2	Sw5-f1/	Вода	2,5	1,5	2,5	SSR48F	Вода	2,5	1,5	2,5
V127/VU127	MgCl2	1,5	2,5	0,3	Sw5-r1	MgCl2	2	2	-	SSR48R	MgCl2	2	2	-
C1/C2	Буфер	1	1	1	Sw5-f2/	Буфер	1	2	3	SSR128F	Буфер	1	2	3
FG1/LF127	dNTP	1	1	1	Sw5-r2	dNTP	1	1	1	SSR128R	dNTP	1	1	1
LF79/LF79	Праймер прямой	1	0,75	1	R1140076F/	Праймер прямой	1	1	1	Sw-421-1	Праймер прямой	1	1	1
F7/FU7	Праймер обратный	1	0,75	1	R1140076R	Праймер обратный	1	1	1	Sw-421-2	Праймер обратный	1	1	1
L79/LU79	Тaq- Полимераза	0,5	0,75	0,5	R1120576F/	Тaq- Полимераза	0,5	0,5	0,5	RTR3aF	Тaq- Полимераза	0,5	0,5	0,5
M78/Mu78	ДНК			1	R1120576R	ДНК	1	1	1	RTR3aR	ДНК	1	1	1
U127/UN157										R31380R1aF/				
U78/UN78		1	1							R31380R1aR				
U78/UP78										ZUP641/				
VF/VR										ZUP642				
VVF1/VVR1	Условия проведения реакции					Условия проведения реакции					Условия проведения реакции			
VVF2/VVR2		Условия 1	Условия 2	Условия 3			Sw5-f1 Shi (2011)	Sw5-f2 Shi (2011)	Условия 1			R. Langella, 2015,	Условия 2	Условия 3
	Начальная денатурация	5 мин при 94°C	30с мин при 94°C	3 мин при 95°C		Начальная денатурация	1 мин при 95°C	1 мин при 95°C	5 мин при 94°C		Начальная денатурация	3 мин при 94°C;	30с мин при 94°C	3 мин при 94°C

Циклы Денатурация	40 циклов 30 с. при 95°C	40 циклов 20 с. при 94°C	34 циклов 30 с. при 95°C
Отжиг праймера	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин при 72°C
Элонгация	при 72°C , 5 мин	6 мин при 72°C	при 72°C , 5 мин
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C

Циклы Денатурация	40 циклов 30 с. при 94°C	36 циклов по 15 с при 94°C	40 циклов 30 с. при 95°C
Отжиг праймера	30 с при 52°C и 1 мин 15 с при 72°C	15 с при 56°C и 45 с при 72°C.	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C
Элонгация	при 72°C , 5 мин	при 72°C , 5 мин	при 72°C , 5 мин
Хранение	при 4°C	при 4°C	при 12°C

Циклы Денатурация	30 циклов 1 мин. при 94°C	40 циклов 20 с. при 94°C	35 циклов 20 с. при 94°C
Отжиг праймера	30с при 50°C и 1 мин 15 с при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	15 с при 52°C и 1 мин 15с при 72°C
Элонгация	5 мин при 72°C	6 мин при 72°C	1 мин 15 с при 72°C
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C

Праймеры	Реакционн ые смеси	Смеси 6 (10Мкл) do Nascime nto (2009)	Смеси 2 (10 Мкл)	Смеси 5 (10 Мкл)	Праймеры	Реакционн ые смеси	Смеси 1 (10Мкл) do Nascimento (2009)	Смеси 6 (10 Мкл)	Смеси 2 (10 Мкл)	Праймеры	Реакционн ые смеси	Смеси 2 (10 Мкл)	Смеси 3 (10 Мкл)	Смеси 1 (10 Мкл)
Mi23 F/ Mi23R	Вода	4,2	3	2,5	PrRuG151F /PrRuG086 R	Вода	2,5	4,2	3	2-5CF 2-2CR TG328F/ TG328R SCAE 16F/ SCAE16R	Вода	3	2,25	2,5
	MgCl2	0,3	1,5	-		MgCl2	2	0,3	1,5		MgCl2	1,5	2,5	2
	Буфер	1	1	3		Буфер	1	1	1		Буфер	1	1	1
FLUW- 25F/ FLUW-25R	dNTP	1	1	1	PrRuG248/ PrRuG249	dNTP	1	1	1		dNTP	1	1	1
	Праймер прямой	1	1	1		Праймер прямой	1	1	1		Праймер прямой	1	0,75	1
P1-16F/ P1- 16R	Праймер обратный	1	1	1		Праймер обратный	1	1	1		Праймер обратный	1	0,75	1
	Taq- Полимераз а	0,5	0,5	0,5		Taq- Полимераз а	0,5	0,5	0,5		Taq- Полимераз а	0,5	0,75	0,5
	ДНК	1	1	1		ДНК	1	1	1		ДНК	1	1	1
Условия проведения реакции					Условия проведения реакции					Условия проведения реакции				
		Условия 1	Условия 2	Условия 3			Условия 1	Условия 2	Условия 3			Условия 1	Условия 2	Условия 3
	Начальная денатурац ия	5 мин при 94°C	30с мин при 94°C	3 мин при 95°C		Начальная денатурац ия	5 мин при 94°C	30с мин при 94°C	3 мин при 95°C		Начальная денатурац ия	5 мин при 94°C	30с мин при 94°C	3 мин при 95°C
	Циклы Денатурац ия	40 циклов 30 с. при 95°C	40 циклов 20 с. при 94°C	34 циклов 30 с. при 95°C		Циклы Денатурац ия	40 циклов 30 с. при 95°C	40 циклов 20 с. при 94°C	34 циклов 30 с. при 95°C		Циклы Денатурац ия	40 циклов 30 с. при 95°C	40 циклов 20 с. при 94°C	34 циклов 30 с. при 95°C

Отжиг праймера	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин при 72°C
Элонгация	при 72°C , 5 мин	6 мин при 72°C	при 72°C , 5 мин
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C

Отжиг праймера	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин при 72°C
Элонгация	при 72°C , 5 мин	6 мин при 72°C	при 72°C , 5 мин
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C

Отжиг праймера	30 с при 55°C и 1 мин при 72°C	20 с при 55°C и 2 мин при 72°C	30 с при 52°C и 1 мин при 72°C
Элонгация	при 72°C , 5 мин	6 мин при 72°C	при 72°C , 5 мин
Хранение	при 12°C	при 12°C	при 12°C