

Оригинальная статья / Original article

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-5-22-28>  
УДК 635.64:631.52

Игнатова С.И.<sup>1</sup>, Бабак О.Г.<sup>2</sup>,  
Багирова С.Ф.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ВНИИ овощеводства – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» 140153, Россия, Московская область, Раменский р-н, дер. Верее, стр. 500  
E-mail: svil@bk.ru

<sup>2</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси 220072, Беларусь, Минск, ул. Академическая, 27  
E-mail: babak\_olga@mail.ru

<sup>3</sup>Лаборатория Меморум 7а, ул. Счин, Лондон, Великобритания  
E-mail: svetlana.bagirova@yahoo.co.uk

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности:** Авторы выражают благодарность главному научному сотруднику лабораторно-аналитического испытательного центра ФНЦО Голубкиной Н.А., а также студентам РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, ныне специалистам Ширяеву А.В., Голотюк Н.Ю. и Корневу А.В. за выполнение анализов по содержанию каротиноидов в плодах томата на различных этапах исследований.

**Для цитирования:** Игнатова С.И., Бабак О.Г., Багирова С.Ф. Создание высоколикопиновых гибридов томата для теплиц с использованием традиционных методов селекции и молекулярных маркеров. *Овощи России*. 2020;(5):22-28. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-5-22-28>

**Поступила в редакцию:** 16.09.2019

**Принята к печати:** 25.08.2020

**Опубликована:** 25.09.2020

Svetlana I. Ignatova<sup>1</sup>, Olga G. Babak<sup>2</sup>,  
Svetlana F. Bagirova<sup>3</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Scientific Research Institute of Vegetable Growing – Branch of the FSBSI Federal Scientific Vegetable Center 500, Vereya, Ramensky district, Moscow region, Russia

<sup>2</sup>Institute of Genetics and Cytology at National Academy of Sciences of Belarus 27 Akademicheskaya Rd, Minsk, Belarus, 220072  
E-mail: babak\_olga@mail.ru

<sup>3</sup>Melioreм 7a Sheen Rd, London, UK  
E-mail: svetlana.bagirova@yahoo.co.uk

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.**

The authors are grateful to scientists Golubkina N.A., Shiryayev A.V., Golotyuk N.Yu. and Kornev A.V. for performing analyzes on the content of carotenoids in tomato fruits at various stages of research.

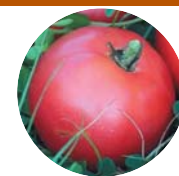
**For citation:** Ignatova S.I., Babak O.G., Bagirova S.F. Development of high-lycopene tomato hybrids using conventional breeding techniques and molecular markers. *Vegetable crops of Russia*. 2019;(6):22-28. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-5-22-28>

**Received:** 16.09.2019

**Accepted for publication:** 25.08.2020

**Accepted:** 25.09.2020

# Создание высоколикопиновых гибридов томата для теплиц с использованием традиционных методов селекции и молекулярных маркеров



**Резюме**

**Актуальность.** Высокое содержание ликопина в плодах томата является важным селекционным признаком при создании новых сортов и гибридов. Использование молекулярных маркеров к аллелям, детерминирующим биосинтез ликопина, в сочетании с традиционными методами селекции на высокое содержание каротиноидов, ценные технологические и вкусовые качества плодов, а также на устойчивость к комплексу патогенов, позволяет оценить потенциал накопления антиоксиданта и более эффективно составлять программы по селекции высоколикопиновых форм для условий защищенного грунта.

**Методика.** Представлены результаты оценки селекционного материала с различными комбинациями аллелей, детерминирующих накопление каротиноидов, и создания гибридов томата с комплексом ценных признаков – высокой продуктивности, устойчивости к болезням, технологических характеристик и биохимического состава плодов. Метод интрогрессии спонтанных или индуцированных мутаций был использован для повышения уровня каротиноидов (*og* и *hp*) и улучшения технологических качеств (*nor*, *alc*, *rin*) плодов. Материалом для исследований являлся коллекционный, мутантный, селекционный, гибридный материал томата и внесенные в Госреестр РФ гибриды томата селекции СС Агрофирмы «Ильинична» – ВНИИО филиал ФГБНУ ФНЦО. ДНК-типирование генов качества плодов выполняли в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

**Результаты.** Созданы отечественные гибриды для промышленных теплиц с высокими вкусовыми и технологическими качествами с использованием поэтапных скрещиваний, позволивших объединить гены *nor*, *rin*, *alc*, приводящие к удлинению сроков хранения с генами *B*, *og*, *hp1* и др., способствующими увеличению содержания каротиноидов в плодах. Установлено, что при целенаправленном отборе и гибридизации, несмотря на негативное влияние генов *nor*, *rin*, *alc* возможно поднять уровень каротиноидов до средних величин. Подтверждена корреляция уровня ликопина в плодах с повышением температуры и уровня инсоляции. Показано, что розовоплодные формы содержат значительно большее количество ликопина, чем красноплодные. Определены сочетания аллелей структурных генов биосинтеза каротиноидов и регуляторных генов, обеспечивающих максимальное накопление ликопина у гибридов с красными и розовыми плодами, формулы которых различались по составу аллелей генов качества плодов. Выделены гибриды с сочетанием высоких концентраций сахара (*Brix*), сухого вещества и максимальных значений ликопина, совместно определяющих отличные вкусовые качества: Прекрасная леди, Оля, Кадриль, Виктория. Новые гибриды F<sub>1</sub> для промышленных теплиц: Г950, Г956, Г960, Магистраль и розовоплодный Г12897, превосходили голландский стандарт по продуктивности до 21%, а по вкусовым качествам на 1-1,8 балла.

**Ключевые слова:** томат, гибриды, линии, мутанты, ДНК-маркеры, качество плодов, ликопин, каротин, устойчивость к био- и абиотическим стрессам.

## Development of high-lycopene tomato hybrids using conventional breeding techniques and molecular markers

**Abstract**

**Relevance.** High lycopene fruit content has been regarded as a very important genetic trait in tomato breeding. Use lycopene molecular markers in combination with conventional breeding techniques allowed us to create hybrids with high lycopene accumulation, excellent organoleptic qualities, high yield production and resistance to pathogens, and to effectively optimize our breeding programmes for commercial greenhouses production.

**Material and Methods.** In this study tomato samples including selected lines and hybrids with various allelic combinations of genes determining carotene accumulation, and other genetic traits, such as disease resistance and yield production were tested. Introgression of spontaneous and induced mutations was used to increase carotenoid levels (*og* and *hp*) and improve fruit technological qualities (*nor*, *alc*, *rin*). The research material was tomato collection, mutants, breeding lines and hybrids listed in the State Register Russian Federation tomato hybrids of breeding SS Agrofirma "Ilyinichna" - VNIIO branch of the All-Russian Scientific Research Institute of Vegetable Growing – Branch of the FSBSI Federal Scientific Vegetable Center. DNA typing of fruit quality genes was performed at the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus.

**Results.** New domestic hybrids for industrial greenhouses, which characterised by improved organoleptic qualities and technological traits were developed with the help of phased cross-breeding that allowed to combine the genes *nor*, *rin*, *alc*, leading to an extension of the shelf life with the genes *B*, *og*, *hp1*, etc., contributing to an increase in carotenoid content in fruits. It was established that for targeted selection and hybridization, despite the negative influence of the *nor*, *rin*, *alc* genes it is possible to raise the level of carotenoids to average values. Correlation between lycopene concentration in fruits and high temperature and level of insolation was confirmed. It was shown that pink-fruited forms contain significantly more lycopene than red-fruited ones. Different allelic combinations of structural genes involved in carotenoids biosynthesis and regulatory genes that provided maximal accumulation of lycopene in hybrids with red and pink fruits were revealed. Hybrids with the combination of high concentrations of sugar (*Brix*), dry matter and maximal lycopene values, combined defining excellent taste were selected: Prekrasnaiya lady, Olya, Quadrille, Victoria. New F<sub>1</sub> hybrids one for industrial greenhouses: G950, G956, G960, Magistral and pink-fruited G12897, surpassed the Dutch standard in productivity up to 21%, and in tastes/organoleptic qualities for 1-1.8 points.

**Keywords:** hybrids, lines, mutants, tomato breeding, molecular markers, fruit quality, lycopene, carotenoids, carotene, resistance to stresses, biotic stresses, abiotic

## Введение

В последнее десятилетие в России наблюдается значительное увеличение площадей, отводимых под строительство и введение в строй новых тепличных комбинатов, оснащенных современным оборудованием, для которых необходимы сорта и гибриды, отвечающие требованиям новых технологий, с одной стороны, и вкусам потребителей, с другой. В настоящее время в новых тепличных комбинатах преимущественно используют гибриды голландской селекции, которые красивы внешне, но зачастую не имеют помидорного запаха и вкуса, грубые по консистенции, так как созданы по принципу: «покупатель выбирает глазами».

Целью нашей работы стало создание отечественных гибридов для защищенного грунта с высокими вкусовыми качествами с сохранением основных параметров: высокой урожайности, стандартности, способности к хранению в течение 2-4 недель, устойчивости к болезням, а также толерантности к низкой освещенности, характерной для зимнего, ранневесеннего и позднего периода выращивания.

Одним из путей достижения такой цели является введение в генотипы сорта или гибрида комбинаций генов, контролирующих и регулирующих накопление каротиноидов, особенно ликопина. Данный каротиноид очень важен для здорового питания человека, поскольку способен поддерживать иммунный статус организма и оказывать профилактический эффект онкологических заболеваний [1, 2]. Работы в направлении повышения уровня каротиноидов в плодах томата ведутся с 60-х годов прошлого столетия. Интенсивные исследования, вызванные многогранным интересом к этим пигментам, инициировали идентификацию и характеристику всех генов и ферментов, участвующих в биосинтетических и катаболических реакциях каротиноидов [3]. В настоящее время точно установлено, что ферменты, участвующие в метаболизме каротиноидов, кодируются ядерными генами, синтезируются в цитозоле, транслоцируются в пластиды и сортируются по специфическим субдоменам органелл в зависимости от типа и морфологии пластид [4]. В селекции томатов для повышения уровня и разнообразия профиля антиоксидантов был использован метод интрогрессии спонтанных или индуцированных мутаций. Для получения линий с высоким содержанием ликопина (улучшение цвета и питательных свойств) использовали такие генетические ресурсы, как аллели, детерминирующие этапы биосинтеза, а также аллели, регулирующие формирование и развитие хлоропластов и др. Опубликованные работы показывают сложность ведения селекции с имеющимся материалом, так как часто формы, наряду с ценными признаками, демонстрировали низкие показатели продуктивности, всхожести семян и другие, что предполагает их низкую конкурентоспособность по сравнению с обычными сортами томатов и ограничивает их распространение в сельском хозяйстве [5].

С развитием методов молекулярной генетики и биотехнологии появилась возможность более целенаправленно вести эту работу. Был картирован и клонирован ряд важных генов, были созданы базы секвенированных полногеномных последовательностей [6-8], благодаря чему появилась возможность создавать простые и удобные молекулярные маркеры. Это особенно актуально в селекции на признаки, проявляющиеся на поздних этапах вегетации, такие как уровень содержания ликопина в зрелых

плодах. Методы ДНК-типирования позволили при введении желаемых аллелей в ценный селекционный материал контролировать на ранних стадиях роста и развития растения возможный уровень накопления каротиноидов в плодах.

В связи с этим основными задачами настоящего исследования являлись:

- изучение генотипов томата с разным сочетанием структурных и регуляторных аллелей, определяющих накопление ликопина в плодах разной окраски;
- введение методом насыщающих скрещиваний в селекционные линии тепличных гибридов генов, контролирующих синтез ликопина, и хозяйственная оценка созданных гибридов;
- изучение влияния условий выращивания на накопление ликопина в плодах томата;
- определение состава генетических аллелей у розовоплодных гибридов томата селекции СС агрофирмы «Ильичична» – ВНИИО, имеющих самый высокий (в 4-5 раз) уровень накопления ликопина среди анализируемых генотипов;
- сохранение толерантности к низкой освещенности, высокой жаростойкости, а также устойчивости к наиболее вредоносным заболеваниям: кладоспориозу, ВТМ, фузариозу, мучнистой росе томата.
- получение гибридов с высокими продуктивными качествами, стандартностью, сохраняемостью плодов, их размером и качеством.

Особое внимание уделено гибридам розовоплодных томатов.

## Материалы и методы исследований

Для исследований был использован коллекционный, мутантный, селекционный, гибридный материал томата, внесенные в Государственный реестр РФ гибриды томата селекции СС Агрофирмы «Ильичична», ВНИИО – филиала ФГБНУ ФНЦО и новые, полученные в результате работы гибриды.

Методы исследований: гибридизация и отбор генотипов, беккроссы, оценка полученных линий и гибридов методами фитопатологии, биохимии и молекулярной биологии (подбор праймеров, ПЦР и электрофоретический анализ продуктов) по требуемым параметрам.

В работе идентифицировали полиморфизм следующих генов с использованием протоколов, разработанных в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси (ИГЦ) [9,10]:

- аллелей структурного гена хлоропласт-специфичной ликолин – β-циклазы (CYC-B): *beta* (*b*, из *S. lycopersicum*), *Beta carotene* (*B* из *S. pennellii*), *old-gold* (*og*) и *old-gold crimson* (*og<sup>c</sup>*) [11];
- аллелей регуляторных генов, замедляющих процесс созревания плодов и биосинтеза каротиноидов (*alcobaca* (*alc*, *nor<sup>A</sup>*), *non-ripening* (*nor*) *ripening inhibitor* (*rin*), [12, 13];
- аллелей генов *High pigment* (*hp-1*, *hp-2<sup>ov</sup>*), обеспечивающих высокое накопление пигментов в плодах [14, 15];
- аллелей гена *SIMYB12* (*Y* и *y*) регулирующего накопление флавоноида халкона в кожуре плодов томата [16, 17].

Биохимический анализ проводили в ФГБНУ ФНЦО и ВНИИО – филиале ФГБНУ ФНЦО с использованием тонкослойной хроматографии и ВЭЖХ [18].

Оценку устойчивости к патогенам осуществляли на высоком естественном фоне в пленочных теплицах, а также с использованием искусственного заражения согласно Методическим указаниям по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта [19] и Методике селекции томата на устойчивость к мучнистой росе [20], а также ПЦР анализов. Оценку производственных качеств (урожайности, стандартности, хранения, размера, вкусовых качеств плодов и т.д.) проводили в остекленных производственных теплицах, для которых созданы гибриды.

**Результаты и их обсуждение**

Мутантные формы полевого томата, любезно предоставленные институтом овощеводства Украины [21], были использованы в селекционном процессе по введению аллелей генов *B*, *og*, *hp1* в родительские линии 5 гибридов тепличного томата селекции СС АФ «Ильнична» методом 4-5 кратного беккроссирования. (табл.1). Эти мутанты не были устойчивыми к болезням, типичным для защищенного грунта, не приспособлены к выращиванию в условиях низкой освещенности. Первично отбор линий и гибридов с указанными генами проводили по цвету и вкусовым качествам плодов.

массы (далее с.м.) обнаружен в красных (6,46 мг) и розовых (8,20 мг) плодах. В желтоплодных и оранжевых образцах он был значительно ниже (3,99 мг). В плодах зеленой окраски присутствовали лишь следовые количества ликопина (0,86 мг). При органолептической оценке полученных гибридов было показано, что накопление ликопина выше 8 мг в плодах значительно улучшает их вкусовые качества [22]. Причем уровень накопления антиоксиданта зависит от условий выращивания гибридов, что было показано в последующие годы.

Метод интрогрессии спонтанных или индуцированных цветковых мутаций широко используется для повышения уровней и диверсификации профиля каротиноидов томата и способствует расширению высокой изменчивости, характеризующей плоды томата. Многие моногенные мутации, влияющие на пигментацию плодовых каротиноидов, были выделены в томате с конца 1940-х годов, и была выяснена их молекулярная основа. Некоторые из них вызывают более глубокую красную окраску спелых плодов, увеличивая содержание ликопина. Несколько линий томатов с высоким содержанием ликопина (HLY) были получены к настоящему времени путем интрогрессии мутаций серии *hp* и с *og* (Ilahy et al., 2018). У томатов аллели *og* и *og<sup>c</sup>* приводят к гипераккумуляции ликопина, как это

**Таблица 1. Содержание ликопина в плодах томата исходных мутантных форм**  
**Table 1. The lycopene content in tomato fruits of the original mutant forms**

Мутант	Мутантные аллели качества	Содержание ликопина, мг/100 г
№ 257	<i>B, hp1, nor</i>	5,06
№ 259	<i>og, u</i>	4,66
№ 261	<i>B, hp1</i>	7,73
№ 262	<i>B</i>	7,36
№ 263	<i>B, hp1</i>	4,02
№ 264	<i>B, alc</i>	1,03
№ 265	<i>B, hp1, gs</i>	7,31
№ 266	<i>B, hp1</i>	4,85

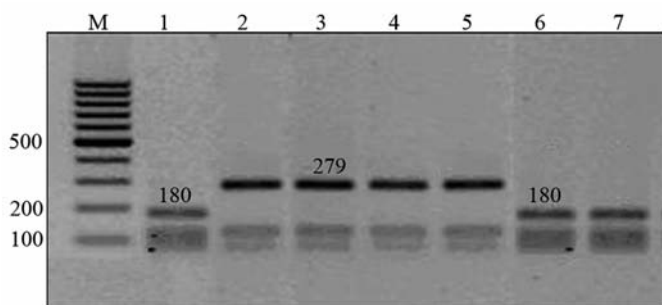
На рисунке представлены результаты молекулярного анализа, подтверждающего наличие аллеля *og* у образца № 269.

В результате, был получен ряд линейных и гибридных комбинаций, которые, начиная с 2013 года, были оценены в биохимической лаборатории по содержанию ликопина в плодах. Наивысший уровень ликопина на 100 г сырой

было показано Bramley [23]. В зависимости от мутации линии красных спелых томатов HLY содержат различные количества ликопина и β-каротина, но обычно больше (до двух раз), чем соответствующие контрольные сорта [24].

В период с 2013 по 2018 годы проводили изучение зависимости накопления ликопина у созданных гибридов, как от условий окружающей среды, так и сочетания аллелей, детерминирующих данный признак.

Для изучения зависимости уровня накопления ликопина от температуры и солнечной радиации образцы выращивали в условиях необогреваемых пленочных теплиц в Подмоскowie и параллельно в остекленных необогреваемых теплицах Беларуси. Было установлено, что более высокий уровень солнечной радиации и температуры в Беларуси по сравнению с Подмоскowieм положительно коррелирует с количеством ликопина в плодах. Так, уровень ликопина лучших гибридов составил от 8,1-11,2 мг на 100 г с.м. в Подмоскowie и 15,4-22,3 мг на 100 г – в условиях Беларуси. Например, гибрид F1 Виктория, являясь стандартом по ликопину, в Беларуси в течение 5 лет имел результат 15,4-18,0 мг/100 г, тогда как в нестабильных условиях Подмоскowie его уровень колебался от 6,5 до 7,5 мг. Данные результаты показывают, что отбор в менее благоприятных условиях повышает его эффективность и



**Рис. 1. Продукты амплификации ДНК сортов и линий томата с BF/BR\_Ddel маркером:**  
**1 – LA3134 (-alc - отр. контроль), 2-3 – LA348 (og - контроль), 4-5 №259, 6-7 – №261**  
**Fig. 1. DNA amplification products of tomato cultivars and lines with BF/BR\_Ddel marker**

Таблица 2. Биохимический состав плодов гибридов томата включенных в реестр РФ селекции  
 СС АФ «Ильинична – ФГБНУ ФНЦО, 2016 год  
 Table 2. Biochemical fruit content of tomato hybrids listed in the State Register Russian Federation of breeding  
 SS Agrofirma "Ilyinichna" – Federal Scientific Vegetable Center, 2016

Гибрид F <sub>1</sub>	Тип роста	Сухое вещество, %	Витамин С мг/100 г массы	Нитраты, мг/кг	°Brix, %	β-каротин, Ликопин	
						мг/ 100 г сырой массы	
Красная стрела	детерминантный	7.0	21	129	4,0	1,5	6,5
Прекрасная леди	детерминантный	8.8	31	153	5.7	1.7	7.3
Горожанка	детерминантный	7.2	21	147	4.2	1.7	6.5
Оля	супердетерминантный	5.8	24	140	3.0	2.2	7.3
Галактика	детерминантный	6.3	27	168	3.5	1.5	4.8
Леля	полудетерминантный	6.2	22	135	4.5	-	-
Подмосковный	полудетерминантный	6.5	23	169	3.1	1.4	4.7
Кавалькада	полудетерминантный	5.6	19	143	2.6	1.3	5.3
Кадриль	полудетерминантный	6.8	24	156	3.5	1.8	6.9
Вологда град	индетерминантный	-*	-	127	2.1	1.5	0.8
Диво	индетерминантный	6.7	25	156	3.7	1.1	5.3
Титаник	индетерминантный	6.3	23	130	3.5	1.5	5.2
Наша Маша	индетерминантный	-	27	164	4.0	1.1	3.8
Космос	индетерминантный	8.7	24	207	5.2	-	-
Виктория	индетерминантный	-	31	229	6.0	1.5	7.4
Вдохновение	индетерминантный	6.7	23	119	3.7	1.1	4.7
Вернисаж	индетерминантный	-	18	106	2.1	1.0	4.5
НСР05						0.8	1.24

\*Значение показателя не определялось

позволяет получить высокое накопление ликопина в плодах при возделывании в оптимальных условиях выращивания.

В разные годы в теплицах Подмосковья средний уровень ликопина на 100 г с.м. в плодах исследуемых гибридов колебался от 5,275 мг (2014 год) до 8,454 мг (2018 год). Наиболее благоприятными по температуре и инсоляции были 2013 (7,463 мг) и 2018 (8,454 мг) годы. Самым неблагоприятным был 2014 год. Анализ средних показателей содержания ликопина в 2013-2018 годах показал, что пониженные температуры в период вегетации и созревания плодов (2014, 2016 годы) приводят к снижению уровня ликопина почти в 2 раза.

Наряду с этими исследованиями было проведено изучение биохимического состава наших внесенных в Реестр РФ гибридов томата, выращенных в условиях пленочных необогреваемых теплиц Подмосковья. Было подтверждено, что при неблагоприятных условиях существенно снижается накопление каротиноидов и изменяется биохимический состав плода в целом (табл.2). Данные условия позволили выделить гибриды с сочетанием высоких концентраций сахара (°Brix), сухого вещества и максимальных значений ликопина, совместно определяющих прекрасные вкусовые качества: Прекрасная леди, Оля, Кадриль, Виктория. В

целом, биохимические показатели значительно различались между гибридами, а в благоприятные для растений томата годы эти различия проявлялись еще выше. При этом независимо от условий выращивания розовоплодные гибриды F<sub>1</sub> Космос, Виктория, Спутник, Галактика, 28/18, №99/18 и некоторые другие стабильно имели максимальные значения ликопина в плодах.

Наряду с оценкой влияния факторов окружающей среды, был проведен анализ содержания ликопина в плодах гибридов различного типа роста. В результате были выделены образцы с высокими показателями по ликопину: супердетерминантный: Оля; детерминантные: Бумеранг, Горожанка, Прекрасная леди, Галактика; полудетерминантные: Кадриль, Леля, Подмосковный, Кавалькада; индетерминантные: новый, внесенный в Реестр РФ в 2016 году гибрид Галочка (15,6 мг/100 г), а также Красный луч, Титаник, Наша Маша и другие. Было показано отсутствие связи между типом роста и накоплением ликопина, что продемонстрировано данными таблицы 2. Из результатов можно сделать вывод, что накопление ликопина не зависит от типа роста, высокий уровень наблюдается как у детерминантных, так и у полудетерминантных и индетерминантных гибридов, и зависит от конкретных аллелей генов, контролирующих синтез ликопина.

Табл. 3. Содержание ликопина в плодах гибридов с мутантными аллелями *rin*, *nor*, *alc*  
Table 3. The lycopene content in hybrids containing mutant *rin*, *nor*, *alc* alleles

№гибрида	Генотип	Ликопин, мг/100 г	№ гибрида	Генотип	Ликопин, мг/100 г
145/14	<i>B, hp1, nor</i>	2.20	257/14	<i>B, hp1, nor</i>	5.06
179/14	<i>B, og, rin</i>	2.03	264/14	<i>B, alc</i>	1.03
192/14	<i>hp1, nor</i>	0,74	Болеро	<i>B, rin</i>	5.77
238/14	<i>hp1, rin, gs</i>	0.82	Рамзес	<i>B, rin</i>	5.23
253/14	<i>B, ag, rin</i>	0.81	Вологда град	<i>B, rin</i>	0.80
			Подмосковный	<i>rin</i>	5.70

В крупных тепличных комбинатах, где сборы плодов проводят 2-3 раза в неделю, актуальным является сохранение плодов в течение 2-3 и более недель для успешной их доставки и реализации.

Ранее, 15-20 лет назад, для создания гибридов такого типа российские и зарубежные селекционеры использовали гены *rin*, *nor*, *alc* (*nor<sup>A</sup>*) и некоторые другие, задерживающие созревание плодов. При введении этих генов в генотипы гибридов в гомозиготном состоянии наблюдается практически полное отсутствие каротиноидов в плодах или незначительное их количество [11, 12]. Однако при целенаправленном отборе и подборе компонентов скрещивания можно поднять уровень до оптимальных величин. Был изучен уровень ликопина в гибридах, полученных с использованием генов *nor*, *rin*, *alc* (в гетерозиготе), при сочетании их с рядом аллелей, определяющих этапы биосинтеза и накопления каротиноидов (*B*, *hp1*, *og* и др.). В таблице 3 представлены результаты испытания образцов селекции ССА «Ильинична» – ВНИИО филиал ФГБНУ ФНЦО. Таким образом, был достигнут уровень накопления ликопина выше 5 мг на 100 г в гибридах: Г257/14, Болеро, Рамзес, Подмосковный. Этот уровень является средним по результатам изучения нескольких лет.

Полученные результаты согласуются с данными ИГЦ НАН Беларуси, где также удалось преодолеть негативное действие генов, задерживающих или блокирующих созревание

[10]. Отрицательной характеристикой полученных форм с данными генами стала значительная задержка начала плодоношения, но в отдельных комбинациях это компенсируется более высокой общей урожайностью (табл. 4).

Используя разработанные маркеры изучаемых генов, в ИГЦ были определены особенности накопления каротиноидов у красноплодных гибридов в зависимости от сочетания аллелей структурного гена хромoplast специфичной ликопин-β-циклазы (*B*, *b*, *og<sup>c</sup>*) с аллелями регуляторных генов. Был сделан вывод что максимальный биосинтез ликопина обеспечивает мутантный аллель *og<sup>c</sup>*, а максимальное накопление каротина – аллель *B*. Комбинация данных аллелей с регуляторными генами числа и размера пластид (*hp-1*, *hp2<sup>dg</sup>*) и замедляющим процесс разрушения хлорофилла геном *green flesh* (*gf<sup>β</sup>*, *gf<sup>α</sup>*) обеспечивает максимальный уровень накопления каротиноидов: *og<sup>c</sup>/hp/gf* – ликопина, *B/hp/gf* – β-каротина [10].

Особую группу составили розовоплодные гибриды с высоким содержанием ликопина: Виктория, Космос, Спутник, Галактика, №28/18, 99/18 и другие. Анализ генотипов этих гибридов показал, что они имеют другой состав генов, контролирующих этот признак.

Поскольку на протяжении длительного периода розовоплодные формы характеризовались максимальным содержанием ликопина, следующим этапом стало изуче-

Таблица 4. Урожайность различных генотипов томата с аллелями замедленного созревания  
Table 4. Yield production in samples containing alleles inhibiting senescence

Название образца	Генотип	Урожайность, кг/м <sup>2</sup>		Масса плода, г
		ранняя	общая	
LOR	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//rin/rin</i>	0,38	9,65	61
LORD*	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//rinwt/rin<sup>wt</sup></i>	3,38	5,52	99
LBN	<i>B/B//nor/nor</i>	0	7,87	88
LBND	<i>B/B//nor<sup>wt</sup>/nor<sup>wt</sup></i>	3,60	6,97	78
LBPН	<i>B/B//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//nor/nor</i>	0	3,84	51
LBPND	<i>B/B//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//nor<sup>wt</sup>/nor<sup>wt</sup></i>	1,70	2,58	43

\**rinwt*\*(*norwt*) дикие немутантные аллели

Таблица 5. Содержание каротиноидов в плодах образцов томата с различным сочетанием аллелей качества (мг/100 г массы)  
Table 5. Carotenoids content in tomato samples containing various combinations of alleles responsible for quality (mg/100 g)

Название образца	Генотип	Бета-каротин	Ликопин	Лютеин	Хлорофилл
<b>красноплодные:</b>					
LO	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup></i>	1,9	11,5	2,7	0
(LOP)	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup></i>	1,7	15,4	2,6	0
(LOG)	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//gf<sup>f</sup>/gf<sup>f</sup></i>	2,0	11,4	2,2	0
(LOPR)	<i>og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//rin/rin</i>	0	0	0	2,1
(LbPG)	<i>b/b//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//gf<sup>f</sup>/gf<sup>f</sup></i>	2,0	6,3	1,8	9,9
(LBP)	<i>B/B//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup></i>	6,7	0	4,0	0
(LbP)	<i>b/b//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup></i>	2,8	12,4	2,7	0
<b>розовоплодные:</b>					
Малиновый коктейль	<i>b/b//y/y</i>	3,6	22,3	3,3	0
Спутник	<i>b/b//y/y</i>	2,4	21,8	4,5	0
Галактика	<i>b/b//y/y</i>	3,9	19,4	3,7	0
N 263	<i>b/b//y/y</i>	2,0	14,2	2,3	0
N33-1/16	<i>og/og//y/y</i>	2,0	14,2	2,3	0
N 34-1/16	<i>b/b//y/y</i>	2,0	19,6	2,2	0
Виктория (стандарт)	<i>b/b//y/y</i>	1,75	15,4	2,0	0

ние особенностей накопления ликопина в плодах при сочетании вышеописанных аллелей с аллелями гена *SIMYB12* (Y и y), регулирующего накопление флавоноида халкона в коже плодов томата. Сочетание аллелей *og<sup>c</sup>* и *b* с аллелем Y дает малиновую и красную окраску, а с аллелем y – розовую [16, 17]. Используя разработанные ранее маркеры [10], в том числе гена *SIMYB12*, было проведено ДНК-типирование изучаемых аллелей и определение уровня накопления каротиноидов в образцах, в том числе шести розовоплодных гибридов селекции ССА «Ильинична», ВНИИО – филиал ФГБНУ ФНЦО. Розовоплодные гибриды имели уровень ликопина от 11,5 до 22,3 мг/100 г см что в 2 – 5 раз превышает средний уровень, каротина от 1,75 до 3,9 мг и лютеина от 2,0 до 4,5 мг одновременно (табл. 5).

Анализ полиморфизма аллелей, определяющих биосинтез каротиноидов у этих форм, показал отсутствие у

них известных аллелей *hp-1*, *hp2<sup>dg</sup>*. Впервые в Беларуси и России было показано, что главным отличием генотипа розовоплодных от красноплодных форм является сочетание рецессивного аллеля *b* гена ликопин-β-циклазы и рецессивного *y* гена *SIMYB12*, блокирующего синтез желтого флавоноида халкона в кожице плодов. Эта комбинация присутствует во всех розовых гибридах российской селекции, что обеспечивает их прекрасные вкусовые качества. Шесть из них внесены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ, широко используются в тепличных комбинатах и в любительском овощеводстве. Особенно выделились по комплексу признаков (в том числе высоким содержанием ликопина) при испытании в тепличных комбинатах розовоплодные индетерминантные гибриды F<sub>1</sub>: Космос, Виктория, Г-№28/18, Г- №99/18, детерминантный Галактика и некоторые другие.

Таблица 6. Урожайность и качество плодов новых гибридов в условиях зимних теплиц Урала  
Table 6. Yield production and fruit quality in new tomato hybrids grown in glass greenhouses in Ural

N гибрида	Урожайность,		Масса плода, г	Лежкость, дней	Дегустация, балл
	кг/м <sup>2</sup>	% к контролю			
Г 950	51,2	121,0	188	45	4,2
Г 951	43,1	101,9	190	44	3,0
Г 952	40,4	95,5	181	46	3,6
Г 955	53,4	126,2	184	48	3,0
Г 956	43,0	101,6	179	46	4,8
Г 958	58,6	138,5	181	49	3,6
Г 959	58,0	137,1	177	51	3,6
Г 960	48,5	114,7	184	51	4,6
Магистраль	44,3	104,7	179	50	4,0
Юпитер	45,1	106,6	174	51	3,6
Г 12897 розовый	43,1	101,9	185	40	4,4
Памяти Мариса	44,0	104,0	177	48	3,6
Форенти (К)	42,3	100,0	192	57	3,0
НСР <sub>05</sub>	2,18				

Малообъемная культура. Посев – 09.12.2016 года, окончание культуры – 25.10.2017 года

К настоящему времени создана новая серия отечественных красноплодных и розовоплодных гибридов для зимних теплиц с высокими показателями урожайности, массы плода и потребительских качеств. В условиях продленного оборота зимних остекленных теплиц с малообъемной гидропоникой четвертой световой зоны (Урал) данные гибридные комбинации показали высокие результаты (табл. 6).

Пять российских гибридов показали урожайность на уровне голландского контроля, а остальные новые гибриды превысили контроль по этому показателю на 6,6–38,5%. Масса плода и их лежкость также были в пределах нормы, но по вкусовым качествам 5 гибридов значительно превосходили голландский гибрид – на 1-1,8 балла, у 5 гибридов вкус плодов был лучше на 0,6 балла, признаки инфекционного заражения на растениях не наблюдались.

## Заключение

Полученные научные и практические результаты позволяют целенаправленно создавать высококачественные промышленные и любительские гибриды томата с ком-

плексом признаков, необходимых для их выращивания в производстве и включения в Гос. реестр.

Показано, что отбор в менее благоприятных условиях повышает его эффективность и позволяет получить высокое накопление ликопина в плодах при возделывании в оптимальных условиях выращивания.

Впервые в России и Беларуси определены оптимальные генотипы (сочетания структурных и регуляторных генов) красноплодных и розовоплодных российских гибридов, обеспечивающих повышенное накопление антиоксидантов ликопина и каротина в плодах томата: красноплодных: *og<sup>c</sup>/og<sup>c</sup>//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//Y/Y*; розовоплодных: *og/og//hp2<sup>dg</sup>/hp2<sup>dg</sup>//y/y; b/b//y/y*.

Получена серия гибридов, включенных в Реестр РФ и перспективных для использования в тепличных комбинациях и любительском овощеводстве.

Содружество специалистов разного профиля: селекционеров, биохимиков, биотехнологов, фитопатологов и агрономов производства позволяет значительно быстрее и качественнее решать сложные задачи создания сортов и гибридов необходимого качества.

## Об авторах:

**Игнатова Светлана Ильинична** – главный научный сотрудник, доктор с.-х. наук, профессор, <https://orcid.org/0000-0002-3743-9426>  
**Бабак Ольга Геннадьевна** – ведущий научный сотрудник, кандидат биол. наук, доцент, <https://orcid.org/0000-0002-1087-9472>  
**Багирова Светлана Фекретовна** – руководитель лаборатории, кандидат биол. наук, <https://orcid.org/0000-0002-0552-3340>

## About the authors:

**Svetlana I. Ignatova** – Dr. Sc. (Agriculture), Chief Researcher, professor, <https://orcid.org/0000-0002-3743-9426>  
**Olga G. Babak** – Cand. Sc. (Biology), Leading Researcher, associated professor, <https://orcid.org/0000-0002-1087-9472>  
**Svetlana F. Bagirova** – Cand. Sc. (Biology), head of the laboratory, <https://orcid.org/0000-0002-0552-3340>

## Литература / References

1. Tan H.L. et al. Tomato-based food products for prostate cancer prevention: what have we learned? *Cancer Metastasis Rev.* 2010;29(3):553-568. doi: 10.1007/s10555-010-9246-z.
2. Sporn M.B., Liby K.T. Is lycopene an effective agent for preventing prostate cancer? *Cancer Prev. Res.* 2013;6(5):384-386. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-13-0026.
3. Nisar N., Li Li, Lu S., Khin N.C., Pogson B.J. Carotenoid metabolism in plants. *Mol Plant.* 2015 Jan;8(1):68-82. doi: 10.1016/j.molp.2014.12.007.
4. Sun T., Yuan H., Cao H., Yazdani M., Tadmor Y., and Li L. Carotenoid metabolism in plants: the role of plastids. *Mol. Plant.* 2018;(11):58–74. doi: 10.1016/j.molp.2017.09.010
5. Ilan Levin, C.H. Ric de Vos, Yaakov Tadmor, Arnaud Bovy, Michal Lieberman, Michal Oren-Shamir, Orit Segev, Igor Kolotilin, Menachem Keller, Rinat Ovadia, Ayala Meir, and Raoul J. Bino High pigment tomato mutants—more than just lycopene (a review). *Israel Journal of Plant Sciences.* 2006;(54):179–190.
6. Labate J.A., Grandillo S., Fulton T., Munos S. Tomato. Genome mapping and molecular breeding in plants. Vol. 5. Vegetables, ed. C. Kole. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 2007:1–126.
7. GenBank. Available at: (accessed 1 Aug 2019).
8. Solgenomics. Available at: <https://solgenomics.net/> (accessed 1 Aug 2019).
9. Кильчевский А.В., Бабак О.Г., Малышев С.В., Аджиева В.Ф., Некрасевич Н.А., Яцевич К.К., Кондратьев А.В. ДНК-типирование генов качества плодов и устойчивости к болезням томата. Методические рекомендации. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Национальная академия наук Беларуси, Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси. Минск, 2016. 41 с. [Kilchevsky A.V., Babak O.G., Malyshev S.V., Adzhieva V.F., Nekrashevich N.A., Yatsevich K.K., Kondratyuk A.V. DNA typing of genes for fruit quality and resistance to tomato diseases. Guidelines. The Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus, the National Academy of Sciences of Belarus, the Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus. Minsk, 2016. 41 p. (in Russian)]
10. Babak O.G., Nekrashevich N.A., Yatsevich K.K., Malyshev S.V., Kilchevsky A. V. Genetic bases of tomato marker-assisted selection in Belarus. *Eurobiotech. J.* 2018;2(2):128-135, doi:10.2478/ebtj-2018-0017
11. Ronen, G., Carmel-Goren L., Zamir D. Hirschberg J. An alternative pathway to  $\beta$ -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of *Beta* and *old-gold* color mutations in tomato. *PNAS.* 2000;97(20):11102-11107.
12. Vrebalov, J., Ruezinsky D., Padmanabhan V., White R., Medrano D., Drake R., Schuch W., Giovannoni J. A MADS-box gene necessary for fruit ripening at the tomato ripening-inhibitor (*Rin*) locus. *Science.* 2002;(296):343-345.
13. Tigchelaar, E.C., M.L. Tomes, E.A. Kerr, and R.J. Barman. A new fruit

14. Kolotilin, I., Koltai H., Tadmor Y., Bar-Or C., Reuveni M., Meir A., Nahon S., Shlomo H., Chen L., Levin I. Transcriptional profiling of *high pigment-2<sup>hg</sup>* tomato mutant links early fruit plastid biogenesis with its overproduction of phytonutrients. *Plant Physiology.* 2007;(145):389–401.
15. Yen, H.C., Shelton B.A., Howard L.R., Lee S., Vrebalov J., Giovannoni J. J. The tomato high-pigment (hp) locus maps to chromosome 2 and influences plastome copy number and fruit quality. *Theor Appl Genet.* 1997;(95):1069–1079.
16. Kim B., Kim N., Kang J., Choi Y., Sim S.-C., Min S.R., Park Y. Single Nucleotide Polymorphisms linked to the *SlMYB12* Gene that Controls Fruit Peel Color in Domesticated Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 2015;33(4):566-574.
17. Veerappan K., Jung H.J., Hwang I., Kho K.H., Chung M.Y., Nou I.S. Sequence Variation in *SlMYB12* is Associated with Fruit Peel Color in Pink Tomato Cultivar. *Hortic. Environ. Biotechnol.* 2016;57(3):274-279.
18. Голубкина Н.А., Молчанова А.В., Тареева М.М., Бабак О.Г., Некрасевич Н.А., Кондратьева И.Ю. Количественная тонкослойная хроматография в оценке каротиноидного состава томата. *Овощи России.* 2017;(5):96-99. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-96-99> [Golubkina N.A., Molchanova A.V., Tareeva M.M., Baback O.G., Nekrashevich N.A., Kondratyeva I.Y. Quantitative thin layer chromatography for evaluation of carotenoid composition of tomatoes *Solanum lycopersicum*. *Vegetable crops of Russia.* 2017;(5):96-99. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2017-5-96-99>]
19. Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта. М.: ВАСХНИЛ, ВНИИССОК, 1986. 98 с. [Guidelines for the selection of tomato varieties and hybrids for open and protected soil. 1986. 98 p. (in Russian)]
20. Методика селекции томата на устойчивость к мучнистой росе (*Oidium lycopersicum* Cooke et Masee). РАСХН, ВНИИО, 2005. 28 с. [Methods for the selection of tomato for resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum* Cooke et Masee). 2005. 28 p. (in Russian)]
21. Куземинский А.В. Селекционно-генетическое исследование мутантных форм томата. Харьков, 2004. 392 с. [Kuzeminsky A.V. Selection and genetic studies of mutant forms of tomato. Kharkov, 2004. 392 p. (in Russian)]
22. Багирова С.Ф., Игнатова С.И. Молекулярные методы в селекции растений. Гавриш. 2012;(2):33-38. [Bagirova S.F., Ignatova S.I. Molecular methods in plant breeding. *Gavrish.* 2012;2:33-38 (in Russian)]
23. Bramley P. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development (Review). *Journal of Experimental Botany.* 2002;53(377):2107-13 • November 2002, DOI: 10.1093/jxb/erf059
24. Ilahy R., Imen T., Siddiqui M.W., Montefusco A. When color really matters: horticultural performance and functional quality of high-lycopene tomatoes. *Plant Sciences.* 2018, DOI: 10.1080/07352689.2018.1465631