

УДК 635.64:578.865.1

UDC 635.64:578.865.1

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ВИРУСА ВТМ НА F₁ ГИБРИДЫ РАСТЕНИЙ ТОМАТА, ПОЛУЧЕННЫЕ ПРИ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ**MORPHOLOGICAL ESTIMATION AND REPRODUCTIVE POTENTIAL AT INFLUENCE OF VIRUS BTM ON F₁ THE HYBRIDS RECEIVED AT REMOTE HYBRIDIZATION**

Хохлова Анна Александровна
аспирант
Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений,
Краснодар, Россия

Khokhlova Anna Aleksandrovna
post-graduate student
All-Russian Research Institute of Biological Plant
Protection, Krasnodar, Russia

В статье приводится динамика изменения количества пыльцевых зерен и морфологических признаков растения томата при воздействии вируса ВТМ условиях вегетационной камеры

The changing dynamics of quantity of pollen grains and morphological attributes of a plant of a tomato is resulted at influence virus VTM in the conditions of the vegetative chamber

Ключевые слова: ТОМАТ, ВИРУС ТАБАЧНОЙ МАЗАЙКИ, СЕЛЕКЦИЯ, ИНОКУЛЯМ, ГИБРИД

Keywords: TOMATO, VIRUS TOBACCO MOSAIC, SELECTION, INOCULUM, THE HYBRID

Введение

Томат – *Lycopersicon esculentum* (Tourn.) Mill является одной из важнейших овощных культур России. Томат принадлежит к царству растений, отделу Покрытосеменные (*Angiospermae*), классу двудольные (*Dicotyledones*), семейству пасленовые (*Solanaceae*), к роду *Lycopersicon* и виду *Lycopersicon esculentum* (Tourn.) Mill [1].

Основные стрессовые факторы, ограничивающие урожайность томата – холод, фитофтороз (*Phytophthora infestans* DB) и вирус табачной мозаики (ВТМ).

В работах Т.Д. Вердеревской установлено, что возбудителем мозаики на томатах чаще всего является ВТМ. Потери урожая от ВТМ находятся в прямой зависимости от времени года, возраста растений, сорта, штамма вируса и способа выращивания [2].

Поражаемость растений вирусом табачной мозаики повсеместно снижает урожайность плодов в 1,3 – 1,6 раза и более [3]. Химические средства борьбы практически бессильны против болезни.

У культивируемых томатов устойчивость к ВТМ контролируется интрогрессированными R-генами: *Tm* -1 (синоним *Tm*) и аллелями *Tm* -2/*Tm*-2а (синоним *Tm*-22) [4, 5]. Ген *Tm*-1 картирован в позиции, близкой к рибосомальным РНК-генам [6].

Отдаленная гибридизация необходима в связи с вовлечением в селекцию генетического потенциала диких видов, мутантных форм и их разновидностей. При этом, начав широкое вовлечение новой зародышевой плазмы в скрещивание с культивируемыми формами растений, селекционеры получили богатые источники разнообразия, и на первый взгляд проблема генетической изменчивости казалась решенной. Практика показала, что эти выводы были преждевременными, а исследования в области генетики позволили выявить причины возникших затруднений, обусловленные ингибированием рекомбинаций в отдаленных скрещиваниях, блочной организацией адаптивных комплексов генов, резким нарушением сбалансированности генотипов по наиболее существенным участкам генома. Генотипическая изменчивость, наблюдаемая в родственных и видовых скрещиваниях, является лишь небольшой частью общего скрытого потенциала изменчивости.

Создание иммунных сортов сельскохозяйственных растений одно из наиболее перспективных направлений в селекции растений 21 века. Устойчивые к вирусам, болезням и вредителям сорта не только повышают урожайность и качество продукции, но и экономят значительные средства на защитные мероприятия и уменьшают или даже исключают загрязнение окружающей среды ядохимикатами. Возможности в селекции каждой культуры зависят от ее генетической изученности [7].

Цель наших исследований провести морфологическое описание и установить репродуктивный потенциал F_1 гибридов растения томата, при воздействии на них вируса ВТМ.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Получить F_1 гибриды между мутантными формами, дикорастущими формами и культурными сортами томата с помощью отдаленной гибридизации.
2. Провести морфологическое описание гибридных форм растения томата при воздействии на них вируса ВТМ.
3. Определить процент реализованной продуктивности F_1 гибридов.

Материал и методика

Работа проведена в 2009-2011 годах на базе ГНУ ВНИИБЗР в лаборатории изучения и поддержания генетической коллекции томата. Исследования осуществляли на образцах из коллекции томата рода *Lycopersicon* (Tourn.) Mill. Коллекция собрана в Институте генетики Молдовы и передана ГНУ ВНИИБЗР в 2005 году.

В качестве абсолютного контроля взят сорт Marglob, который используется для описания генетической коллекции, так как он имеет типичную для культурного томата морфологию. Сорт выделен из коллекции ВИРа и отселектирован на Майкопской станции этого института под №1644. В качестве относительного контроля взят сорт Гаидас, районированный для Краснодарского края [8].

В селекционный процесс были вовлечены в качестве отцовских форм *Mo* 393, *Mo* 628, *Mo* 755 и дикорастущие формы коллекции *L. esculentum var. racemigerum*, *L. hirsutum var. glabratum* в качестве материнской формы, устойчивые к ВТМ [9, 10].

На основе родительских форм с помощью искусственного опыления в вегетационной камере с заданными условиями для гибридизации по методике Д.Д. Брежнева были получены следующие комбинации: *Mo* 393 × *L. esculentum var. racemigerum*, *Mo* 393 × Marglob, Гаидас × *Mo* 393, Гаидас × *Mo* 755 [11].

Степень совместимости между маркерными формами, культурными сортами и дикими видами томатов изучали в вегетационной камере.

Вегетационный метод считается одним из агрономических методов исследования, позволяющий более детально выявить значение отдельных факторов, влияющих на рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных культур. В данной работе использовали почвенную культуру, на которой подробно проводили изучение влияния аммиачной селитры (NH_4NO_3) на скорость распространения вируса ВТМ по растению томата. Параметры в вегетационной камере были заданы следующие: температурный режим: день $+25\pm 2^\circ\text{C}$, ночь $+18\pm 2^\circ\text{C}$; освещенность – 10 тыс. лк; влажность воздуха 60-65%, световой день – 16 ч., ночь – 8 ч. Сеянцы выращивали в кассетах с дальнейшей пересадкой в вегетационные 5 л сосуды [12].

Расчет дозы удобрения на сосуд осуществлялся с учетом массы сухой почвы и дозы г д.в. удобрения на 1 кг почвы [13].

Для заражения образцов использовали обычный (зеленый) штамм ВТМ, полученный из лаборатории вирусологии ВНИИФ, поддерживаемый на растениях турецкого табака (*N. tabacum* L.).

Заражение сеянцев проводили в фазе 2 настоящих листьев, перед инокуляцией на листья был нанесен карборунд с размером частиц 500 мкм. Затем стеклянным шпателем был нанесен инокулюм (вирус ВТМ) на $\frac{1}{2}$ листа, предварительно разведенный в дистиллированной воде 1:500 мкл. Для каждого варианта заражали 3 растения каждого образца. Визуальное обследование и диагностику проводили по количеству некрозов, появившихся на листьях томата [14].

Для учета количества пыльцы в цветке и определения пыльцевой продуктивности у растения томата проводили сбор пыльцевых колонок в день раскрытия бутона по методике, разработанной на кафедре генетики МСХА [15]. Процент реализованной продукции определяли отношением числа завязавшихся плодов к числу цветков растения томата [16].

Результаты исследования

Морфологические особенности образцов генетической коллекции томата, вовлекаемых в скрещивания, очень важны для изучения реализации баланса между пыльцевой продуктивностью и реализованной продукцией в потомстве гибридов Marglob и Гаидас.

В связи с этим было проведено детальное описание этих образцов, позволившее зафиксировать наличие у некоторых из них, не описанных ранее морфологических признаков. Ниже приведены описания образцов генетической коллекции. Если локализация признака уже установлена другими авторами, то после описания дано его буквенное обозначение в соответствии с данными. Как правило, межвидовые F_1 гибриды в большей степени похожи по всему комплексу морфологических признаков на дикий вид [17]. Поэтому в качестве материнской формы для осуществления реципрокного скрещивания использовали дикие формы томата. При скрещивании мутантных форм с дикими видами трудности получения гибридов отсутствовали. Не вызвала сомнения и совместимость культурных сортов с мутантными формами.

Все процессы, происходящие в клетке или организме, в том числе и пыльцевая продуктивность, зависят от разнообразных факторов, влияющих на них. Ранее был проведен ряд исследований с целью выяснить влияние условий питания растений на распространение вируса ВТМ по растению томата. Полученные результаты нередко противоречивы, что, возможно, связано с различными методами выращивания растений, использованием различных штаммов вируса, применением удобрений, эффективность которых различна. Максимальное размножение вируса наблюдается обычно при наилучших условиях выращивания растения. Так, Bawend и Kassanis пришли к выводу, что действие азота и фосфора на размножение ВТМ хорошо коррелирует с влиянием этих веществ на рост растений [18].

В таблице 1 представлены результаты воздействия факторов внешней среды на пыльцевую продуктивность цветков томата.

Таблица 1 – Пыльцевая продуктивность цветков растений томата, зараженных вирусом ВТМ, ГНУ ВНИИБЗР, Краснодар 2010 г.

Сорта, гибриды	№ кисти	Количество пыльцевых зерен в цветке, тыс. шт., ($\times 10^4$)			
		1-й бутон кисти	2-ой бутон кисти	3-й бутон кисти	4-й бутон кисти
Marglob (контр. абсол.)	I	6,8	5,1	5,0	5,2
	II	7,5	5,3	5,2	4,7
	III	5,2	4,8	4,7	4,0
Гаидас (контр. относ.)	I	6,2	5,2	5,8	5,2
	II	6,2	5,2	4,7	5,2
	III	5,8	4,7	4,8	4,7
<i>Mo 393</i> \times <i>L. esculentum</i> var. <i>racemigerum</i> ;	I	5,8	4,6	3,4	3,5
	II	5,3	5,3	5,3	5,2
	III	4,3	4,5	3,5	3,3
Marglob \times <i>Mo 393</i>	I	5,2	4,7	4,7	5,7
	II	4,7	4,8	4,8	4,7
	III	4,8	5,2	5,0	4,7
Гаидас \times <i>Mo 755</i>	I	4,1	4,7	3,2	4,8
	II	4,7	4,1	4,7	4,7
	III	4,2	4,7	5,2	4,8
Гаидас \times <i>Mo 393</i>	I	5,2	5,1	3,4	4,7
	II	5,3	3,9	4,8	4,8
	III	4,8	4,7	4,0	4,2
НСР _{0,05}	Σ	5,2	3,9	1,9	2,8

У изученных генотипов в контроле исходная пыльцевая продуктивность первых и вторых бутонов была разной и варьировала от 3,9 до 5,2 тыс. шт. по данным НСР_{0,05} [19]. В то же время выявлено снижение количества пыльцевых зерен в исследуемых гибридах первого поколения по сравнению с контролем. Максимальное снижение данного показателя пыльцевых зерен обнаружено у F₁ гибридов *Mo 393* \times Marglob, Гаидас \times *Mo 393* и Гаидас \times *Mo 755* от 3,2 до 5,3 тыс. шт. Выявленные различия по пыльцевой продуктивности соответственно сказались на устойчивости гамет к действию вируса ВТМ. Максимальная устойчивость

к вирусу ВТМ между гибридами первого поколения обнаружена у *Mo 393* × *L. esculentum var. racemigerum* – 5,8 тыс. шт.

В таблице 2 представлены результаты морфологического описания F₁ гибридов.

Таблица 2 – Морфологические признаки F₁ гибридов растений томата, зараженных вирусом ВТМ, ГНУ ВНИИБЗР, Краснодар 2010 – 2011 гг.

Генотип / Признаки	Marglob (абсол. контр.)	Гаидас (относ. контр.)	<i>Mo 393</i> × <i>L.</i> <i>esculentu</i> <i>m var.</i> <i>racemige-</i> <i>rum</i>	Marglob × <i>Mo</i> 393	Гаидас × <i>Mo</i> 755	Гаидас × <i>Mo</i> 393
Фаза	3 – 4 настоящих листа					
Гены	-	-	<i>c; m - 2</i>	<i>c; m - 2</i>	<i>wv; aa;</i> <i>d</i>	<i>c; m - 2</i>
Тип куста	Индетер минантн ый	Детерми нантный	Индетерминантный		Детерминантный	
Длина междоузлия (см)	3,56	3,09	3,54	1,56	2,18	4,90
Высота растения (см)	15,45	14,96	20,34	15,98	14,32	15,34
Процент пораженной листовой пластинки	50	50	46	51	48	48
Число цветков на 1-ом соцветии	7	8	9	6	7	8
Число цветков на 2-ом соцветии	8	9	8	5	8	7
Число цветков на 3-ем соцветии	7	7	8	6	8	6
Число плодов на 1-ой кисти	2	2	2	1	1	2
Число плодов на 2-ой кисти	2	1	3	2	2	1
Число плодов на 3-ей кисти	1	2	2	±1*	1	1
Процент реализованного продукта	22,3	20,8	25,0	17,6	8,6	19,0

* – Не вызревший плод, в расчетах не учитывался.

Влияние инфицирования растений ВТМ проявилось в виде изменения длины междоузлия и высоты растения. У F_1 гибрида Гаидас \times Мо 755 в период 3-4 настоящих листьев отмечено снижение высоты растений. На состоянии растения повлияла отцовская форма Мо 755, которая является носителем гена *d* (все части растения уменьшены). Гибриды Marglob \times Мо 393 и Гаидас \times Мо 393 указали на положительный гетерозис. Своеобразной была реакция на заражение ВТМ у устойчивого F_1 гибрида Мо 393 \times *L. esculentum* var. *racemigerum*. Растения этого гибрида под влиянием инфицирования увеличивали длину междоузлия и высоту, тем самым проявив доминантные признаки дикого вида томата. Уменьшение процента реализованной продукции от 19,0 до 8,6 % от заражения ВТМ у F_1 гибридов Marglob \times Мо 393, Гаидас \times Мо 393, Гаидас \times Мо 755 по сравнению с контролем Marglob 22,3 % и Гаидас 20,8 % и устойчивым гибридом Мо 393 \times *L. esculentum* var. *racemigerum* 25,0 % тесно коррелирует со снижением образования плодов на кистях. Использование в селекционной практике для получения F_1 в качестве одного из родителей дикую форму томата обеспечивает достаточное количество плодов от 1 до 9 шт. на одном соцветии.

Устойчивость F_1 гибридов растений томата к поражению вирусами является важнейшим условием перехода к адаптивной системе растениеводства, обеспеченной экологической безопасностью и рентабельностью [20]. На протяжении нескольких последних десятилетий ежегодные потери растениеводческой продукции в мире вследствие действия биотических стрессоров достигают 30-40 %. Следовательно, несмотря на все возрастающие масштабы применения гибридизации в селекции, уровень потерь урожая все еще остается высоким [21].

Заключение. Таким образом, на примере гибридов первого поколения растений томата, полученных в результате отдаленной гибридизации, удалось установить влияние минерального питания и

вируса ВТМ на их репродуктивный потенциал. Полученный F₁ гибрид *Mo 393* × *L. esculentum var. racemigerum* обладает достаточно большим количеством пыльцевых зерен и является перспективным генотипом для включения в селекционную практику. На количество пыльцы в цветке влияет как порядок заложения кисти, так и положение цветка на кисти. Количество пыльцевых зёрен в цветке к концу кисти, как правило, уменьшается.

Список литературы

1. Тахтаджян А. Л. Система магнолиофитов. Л.: Наука, 1987. 439 с.
2. Вердеревская Т.Д. Вирусные болезни тепличных томатов и меры борьбы с ними. //Земледелие и животноводство.1954. № II. С. 77-78.
3. Авдеев Ю. И. Генетический анализ растений: Монография. А: Издательский дом. 2004. 379 с.
4. Hall T.J. Resistance at the Tm-2 locus in the tomato to tomato mosaic virus. Euphytica, 1980. №29. P. 189-197.
5. Pelham J. Resistance in tomato to tobacco mosaic virus. Euphytica. 1966. №15. P. 258-267.
6. Tanksley S.D., Ganai M.W., Prince J.P. High-density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. Genetics, 1992. №132. P. 1141-1160.
7. Авдеев Ю.И., Авдеев А.Ю., Иванова Л.М. Создание наукоемких доноров растений на примере томата. Современные наукоемкие технологии. №3, 2008. 95 с.
8. Жученко А.А. Генетика томатов. Кишинев: Штиинца. 1973. 663 с.
9. Kalloo G. Genetic Improvement of Tomato. Berlin, 1991. 358 p.
10. Бочарникова Н.И., Козлова В.М. Мутантные формы томатов. Кишинев: Штиинца, 1992. 63 с.
11. Методика селекции и семеноводства овощных культур. / Под общ. ред. Д.Д. Брежнева. Л: Колос. 1964. 312 с.
12. Журбицкий З.И. Теория и практика вегетационного метода. М.: Наука, 1968. 224 с.
13. Ягодин Б.А., Жуков Ю.П., Волобуева В.Ф., Янушевская О.Л. Вегетационный метод исследования, М.: МСХА. 2007. 72 с.
14. European Handbook of Plant Diseases. /Edited I.M. Smith.Blackwell Scientific Publications. 1989. 583 p.
15. Цитогенетическая характеристика мей-мутантов томата. Иванова С.В., Долгодворова Л.И., Кирцова М.В., Зверкова С.В., Варакина С.А. / Изв. ТСХА. вып.3. М.:Изд-во МСХА. 1996. С. 54-63.
16. Куперман Ф.М., Современное состояние и очередные задачи морфофизиологии растений. Морфогенез растений. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1961. Т. 1. С. 53-54.
17. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. Кишинев: Штиинца. 1980. 587с.
18. Bawend F.C, Kassanis B., Some effects of host nutrition on the susceptibility of plants to infection by certain viruses. Ann. Appl. Biol. 1950. P. 46-57.
19. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта с основами статистической

- обработки результатов исследований. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
20. Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы): Монография. В двух томах. М.: Изд-во РУДН, 2001. Том II. С. 356-371.
21. Жученко А.А. Генетика томатов. Кишинев: Штиинца. 1973.663 с.