

УДК 123:456

06.01.05 – Селекция и семеноводство
(сельскохозяйственные науки)**ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГИБРИДИЗАЦИОННЫХ
ЗОНДОВ REAL-TIME PCR, НА ПРИМЕРЕ
МАРКЁРА ГЕНА УСТОЙЧИВОСТИ К ВТМ
КУЛЬТУРЫ ТОМАТА**

Буц Алексей Валерьевич
аспирант, кафедра генетики, селекции и
семеноводства
coloney-alex@mail.ru

Цаценко Людмила Владимировна
д-р. биол. наук, профессор, кафедра генетики,
селекции и семеноводства
Scopus Author ID: 55952841000
SPIN-код: 2120-6510
SPIN-код: 5269-6699
lvt-lemna@yandex.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет имени И. Т. Трубилина, Россия,
Краснодар 350044, Калинина 13*

В статье рассматривается методика отбора с помощью маркеров при подборе родительских пар для гибридизации, в процессе отбора и при последующей оценке родительских линий, используется в линейной и беккросной селекции томата. Работа выполнена на гибридах томата, сочетающее в своем геноме гены устойчивости к вирусу мозаики томата (ToMV) или вирусу табачной мозаики (ВТМ). В исследованиях были использованы семена иностранных гибридов томата F₁, зарекомендованные фирмой-производителем, как устойчивые к вирусу табачной мозаики. Большая часть гибридов томата была голландской селекции, таких ведущих фирм, как De Ruiter Seeds, Enza Zaden, Rijk Zwaan. Целью работы была апробация системы гибридизационных зондов, созданной для идентификации гена устойчивости к вирусу табачной мозаики. Исследование генотипа растений томата проводилось в лаборатории молекулярной диагностики растений, оборудованной современными приборами для проведения ПЦР-анализа на базе НИИОЗГ (г. Крымск). Сбор растительного материала осуществляли в разные фазы вегетации растений, для сбора растительных проб использовались заранее пронумерованные пробирки объемом 1,5 мл (SSI-1200-00), пластиковые планшеты, пинцет, дистиллированная вода. Собранные образцы помещались на хранение в холодильную камеру до выделения растительной ДНК. Во время исследования были изучены коллекционные образцы томата, в том числе 8 гибридов F₁ и 2 линии, используемые в качестве контроля. По

UDC 123:456

06.01.05 – Breeding and seed production (agricultural sciences)

**USING REAL-TIME PCR HYBRIDIZATION
PROBES, ON THE EXAMPLE, OF A MARKER
OF THE TMV RESISTANCE GENE IN A
TOMATO CULTURE**

Buts Aleksey Valerievich
postgraduate student of the Chair of genetic, plant
breeding and seeds
coloney-alex@mail.ru

Tsatsenko Luidmila Vladimirovna,
Dr.Sci.Biol., professor, Chair of genetic, plant
breeding and seeds
Scopus Author ID: 55952841000
RSCI SPIN-code 2120-6510
RSCI SPIN-code 5269-6699
lvt-lemna@yandex.ru
*Kuban State Agrarian University named after I. T.
Trubilin, Krasnodar 350044, Kalinina 13, Russia*

The article discusses the method of selection using markers in the selection of parent pairs for hybridization, in the selection process and in the subsequent evaluation of parent lines, used in linear and backcross selection of tomatoes. The work was performed on tomato hybrids that combine resistance genes to tomato mosaic virus (ToMV) or tobacco mosaic virus (TMV) in their genome. The research used seeds of foreign F₁ tomato hybrids recommended by the manufacturer as resistant to the tobacco mosaic virus. Most of the tomato hybrids were Dutch selection, such leading firms as De Ruiter Seeds, Enza Zaden, Rijk Zwaan. The aim of the work was to test a system of hybridization probes designed to identify a gene for resistance to the tobacco mosaic virus. The study of the genotype of tomato plants was carried out in the laboratory of molecular diagnostics of plants, equipped with modern devices for PCR analysis on the basis of NIIOZG (Krymsk). Plant material was collected in different phases of plant vegetation. pre-numbered 1.5 ml test tubes (SSI-1200-00), plastic tablets, tweezers, and distilled water were used to collect plant samples. The collected samples were stored in a refrigerator until the plant DNA was isolated. During the study, collectible tomato samples were studied, including 8 F₁ hybrids and 2 lines used as controls. According to the results of genetic analysis using the marker of the TMV resistance gene, it was found that all hybrids and one control line # 175/14 have a resistance gene in their genotype, and the analysis also showed the state of the gene – homozygous or heterozygous. The results of artificial infection confirmed the results obtained by PCR analysis. At the same time, using genetic research, it is

результатам генетического анализа с применением маркера гена устойчивости к ВТМ было выявлено, что все гибриды и одна контрольная линия № 175/14 имеют в своем генотипе ген устойчивости, также анализ показал состояние гена – гомозиготное или гетерозиготное. Результаты искусственного заражения подтвердили результаты, полученные при ПЦР-анализе. При этом с помощью генетического исследования можно определить точное состояние гена в растении, что нельзя определить методов искусственного заражения, так как между растениями с гетерозиготным и гомозиготным состоянием гена визуальных отличий найдено не было. Созданный маркер и методику ПЦР-анализа можно рекомендовать для широкого применения в селекционном процессе культуры томата. В результате исследований установлено, что современные гибриды томатов имеют в своем генотипе ген устойчивости к вирусу табачной мозаики (ВТМ). Это было определено генетическим анализом и подтверждено испытанием с применением искусственного заражения

Ключевые слова: ГИБРИДЫ ТОМАТА, ВИРУС ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ, ГИБРИДИЗАЦИОННЫЕ ЗОНДЫ REAL-TIME PCR

possible to determine the exact state of the gene in the plant, which cannot be determined by methods of artificial infection, since no visual differences were found between plants with a heterozygous and homozygous state of the gene. The created marker and PCR analysis method can be recommended for wide application in the selection process of tomato culture. As a result of research, it was found that modern tomato hybrids have a gene for resistance to tobacco mosaic virus (TMV) in their genotype. This was determined by genetic analysis and confirmed by a test using artificial infection

Keywords: TOMATO HYBRIDS, TOBACCO MOSAIC VIRUS, REAL-TIME PCR HYBRIDIZATION PROBES

DOI: <http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-158-012>

Введение. На сегодняшний день в России, томат – это вторая культура после огурца, выращиваемая в защищенном грунте, и одна из важнейших культур, выращиваемых в открытом грунте. По оценке Минсельхоза в 2019 году валовой сбор овощей открытого и защищенного грунта в сельскохозяйственных организациях и крестьянских (фермерских) хозяйствах превысил 6,4 млн тонн, из которых сбор томата составил около 22%, порядка 1,4 млн тонн, из них более 0,5 млн тонн в этом году собрано в теплицах. [9].

При выращивании томата большое значение имеют сорта и гибриды с комплексной устойчивостью к патогенам, потому что такие генотипы позволяют отказаться от всех прямых мероприятий по защите растений в системах промышленного и коммерческого выращивания томата.

Бурное развитие молекулярной генетики предоставило селекционерам мощный инструмент для создания новых сортов –

молекулярное маркирование, которое основано на полиморфизме ДНК-последовательностей. Новый метод быстро и охотно был принят селекционерами и даже появился такой термин «marker assisted selection» - селекция с помощью маркеров [11].

В настоящее время для эффективного ведения селекции гибридов, обладающих устойчивостью к патогенам, необходимо оценивать интрогрессию генов устойчивости после каждого скрещивания. Наличие полных геномных последовательностей дает возможность эффективно проводить поиск различных генов, отвечающих за ценные признаки, а также соответствующих ДНК-маркеров для маркер-ориентированной селекции (MAS) новых форм томата. Использование MAS в селекционной практике подразумевает под собой не только маркеры, как таковые, но и сам процесс, который бы позволял тестировать огромное количество образцов [3,4].

Отбор с помощью маркеров применяется при подборе родительских пар для гибридизации, в процессе отбора и при последующей оценке родительских линий, используется в линейной и беккросной селекции томата. В результате внедрения новых технологий и ускорения интенсивного и целенаправленного селекционного процесса, в кратчайшие сроки были созданы гибриды томата, сочетающее в своем геноме гены устойчивости к мозаике томата, кладоспориозу, фузариозному и вертициллезному увяданию [1,2, 10].

Одним из самых распространенных вирусных заболеваний томата является вирус мозаики томата (ToMV) или вирус табачной мозаики (VTM)– широко распространенное заболевание томата во многих регионах. Потери урожая при заражении ToMV достигают 50% и более. Заболевание характеризуется появлением пестрой (мозаичной) окраски листьев, стеблей и плодов с последующей их деформацией и увяданием. Реакция растения томата на заражение вирусом зависит не только от

генетики хозяина (наличия или отсутствия генов Tm), но и от генотипа вируса [8]. ToMV высококонтагиозен и передается через механический контакт, а также насекомыми: трипсами, тлей и др. [12].

Существует три доминантных гена двух типов устойчивости к вирусу — Tm-1 – толерантность, Tm-2 и Tm-3 (Tm-2a) – сверхчувствительность [5]. Tm-1, локализованный на хромосоме 5, обеспечивает устойчивость томата к ВТМ на клеточном уровне, ингибирует синтез вирусной РНК посредством супрессии вирусной РНК репликазы, не дает полной устойчивости. Он впервые был обнаружен в потомстве от скрещивания культурного томата *Lycopersicon esculentum* Mill. с диким видом *L. hirsutum* Humb (Хохлова А.А., 2014). Все эти гены были широко использованы при создании сортов и гибридов. Ген Tm-2a обеспечивает большую устойчивость к различным штаммам вируса (Будылин М.В., 2015). Гены Tm-2 и Tm-22, локализованные на хромосоме 9, придают устойчивость на тканевом уровне – блокируют передвижение вируса от клетки к клетке, а также вызывают реакцию гиперчувствительности [7]. Наибольшая эффективность наблюдается при сочетании всех трех доминантных генов в гомо- или гетерозиготном состоянии [8]/

В связи с этим целью работы была апробация системы гибридизационных зондов, созданной для идентификации гена устойчивости к вирусу табачной мозаики. Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Собрать коллекцию гибридов томата с заявленной устойчивостью к ВТМ, провести генотипический анализ и испытание при искусственном заражении;
2. Получить второе поколение гибридов томата, провести генотипический анализ и испытание при искусственном заражении;

3. Проанализировать полученные результаты и сделать выводы о работе созданной системы гибридизационных зондов.

Материал и методы исследования.

В исследованиях были использованы семена иностранных гибридов томата F_1 , зарекомендованные фирмой-производителем, как устойчивые к вирусу табачной мозаики. Большая часть гибридов томата была голландской селекции, таких ведущих фирм, как De Ruiter Seeds, Enza Zaden, Rijk Zwaan.

Исследование коллекции гибридов F_1 , проводилось на базе Крымского филиала Научно-исследовательского института овощеводства защищенного грунта (г.Крымск). Наблюдения проводились в пленочных, отапливаемых теплицах в зимне-весеннем и летне-осеннем севооборотах. Тепличный комбинат оборудован современным оборудованием для выращивания овощных культур. Растения выращивались на земельном грунте, с использованием автоматического капельного полива. Для сортоиспытания гибриды томата F_1 были высажены по 8 растений в 3-х кратной повторности, как рекомендовано методическими указаниями, плотность посадки составляла 2,5 растения на m^2 .

Важным аспектом в изучении гибридов томата являлось исследование морфологических признаков растений. Изучение и ботанико-морфологическое описание проводили согласно «Методическим указаниям по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта» [6] (Москва, 1986) и «Методическим указаниям ВИР по изучению и поддержанию мировой коллекции овощных пасленовых культур (томат, баклажаны, перцы)» (ВИР, 1977). При оценке и описании растений на участке сортоиспытания учитывали следующие признаки: тип и мощность роста, облиственность, наличие сочленения, форма плода, наличие зеленых пятен на плодах, размер, однородность плодов в кисти,

товарные качества плода, устойчивость к растрескиванию и вершинной гнили, определяли массу плода и урожайность одного растения.

Искусственное заражение растений проводилось в рассадном отделении свежеприготовленным инокулюмом. Растения заражали методом повреждения листовой пластинки и нанесением суспензии. Оценку устойчивости образцов томата к ВТМ проводили на искусственном инфекционном фоне по общепринятой методике [6].

Статистическую обработку данных проводили с применением пакета программ Microsoft Office 2013 и программы Statistica 9.0.

Исследование генотипа растений томата проводилось в лаборатории молекулярной диагностики растений, оборудованной современными приборами для проведения ПЦР-анализа на базе НИИОЗГ (г. Крымск).

Сбор растительного материала осуществляли в разные фазы вегетации растений, для сбора растительных проб использовались заранее пронумерованные пробирки объемом 1,5 мл (SSI-1200-00), пластиковые планшеты, пинцет, дистиллированная вода. Собранные образцы помещались на хранение в холодильную камеру до выделения растительной ДНК.

Выделение растительной ДНК производили по методике предложенной MURRAY and THOMPSON (1980), доработанной BERNATZKY and TANKSLEY (1986). Методика была немного усовершенствована нами, а именно в процессе использовали химические растворы: LiCl; SiO₂; NaI; раствор спирта 96%; раствор хлороформа и изоамилового спирта (с=24:1). Приборная база состояла из Tissue Lyser II (QIAGEN); Multi-Vortex V-32; Aspirator FTA-1; Центрифуги SL 8/8R; Multipette M4.

С помощью метода Real-Time PCR исследовали генотипы томата с использованием амплификатор LightCycler 480 II (Roche) и система гибридизационных зондов (HybProb), созданных фирмой Roche,

синтезированных в ЗАО «Синтол» г. Москва: два олигонуклеотидных праймера и два флуоресцентных зонда Anchor и Sensor, которые взаимодействуют по FRET, MgCl₂, dNTP, 10 x Taq Buffer, Dream Taq DNA Polymerase. Объем жидкости для проведения одного анализа составлял 10 мкрл.

Условия проведения реакции: денатурация 95°C в течение 10 минут; амплификация (95°C -10 сек; 62°C -15 сек; 72°C - 5 сек) в течение 40 циклов; плавление 95°C - 1 минуту; 42°C - 1 минуту, далее повышение температуры до 95 °C со снятием флуоресценции каждые 0,01 градуса. Результатом эксперимента было получение графика с ярко выраженными пиками на определенных температурах, при сравнении с контролями проводился анализ полученного графика и результаты вносились в электронную таблицу.

Использовали молекулярный маркер, созданный в лаборатории молекулярной диагностики растений под руководством Будылина М.В.:

Зонд 1 - ROX-CTGGTGTGGGAGTCTAAACATTTGAGACA-Phosphate;

Зонд 2 - ACGTAGCCTCATTC AACCTCC-FAM;

Reverse - TACATGCTTGTCCATAATCTCTATAAC;

Forward - ATGACTTGCTTACGCTATCTGA.

Результаты исследований

Во время исследования были изучены коллекционные образцы томата, в том числе 8 гибридов F₁ и 2 линии, используемые в качестве контроля. По результатам генетического анализа с применением маркера гена устойчивости к ВТМ было выявлено, что все гибриды и одна контрольная линия № 175/14 имеют в своем генотипе ген устойчивости, также анализ показал состояние гена – гомозиготное или гетерозиготное.

Отсутствие гена устойчивости в контрольной линии № 144/14 было подтверждено. После визуальной оценки искусственного заражения растений томата вирусом табачной мозаики было определено, что растения всех гибридов и линии № 175/14, обладают устойчивостью, в свою очередь на растениях линии № 144/14 было отмечено поражение вирусом. Все результаты представлены в таблице 1 и рисунке 1.

Таблица 1 – Результаты исследования состояния генов устойчивости у гибридов томата F₁

Гибрид	Фирма оригинатор	Результат генетического анализа	Результат искусственного заражения
№ 144/14	Линия (контроль)	S	неустойчив
№ 175/14	Линия (контроль)	R	устойчив
F ₁ Taymyr	Rijk Zwaan	R	устойчив
F ₁ Managua	Rijk Zwaan	R	устойчив
F ₁ Forenza	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ Fizuma	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ Foronti	Semenis	R	устойчив
F ₁ E15B40897	Enza Zaden	H	устойчив
F ₁ DR2379TH	Semenis	H	устойчив
F ₁ Emrero	Syngenta	R	устойчив

*Условные обозначения, указанные в таблице: *R* – наличие гена устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* - наличие гена устойчивости в гетерозиготном состоянии; *S* – отсутствие гена устойчивости.

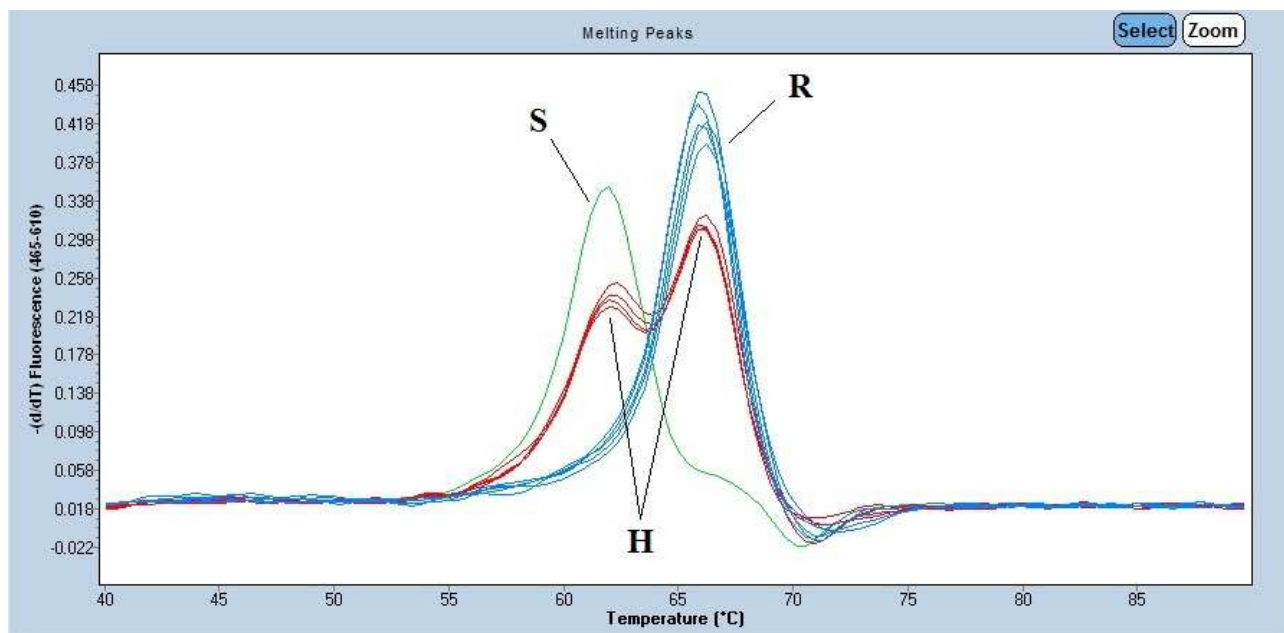


Рисунок 1 – Схематическое изображение наличие генов устойчивости к ВТМ у гибридов томата F₁.

После получения результатов исследования коллекционных гибридов томата F₁ были отобраны 3 гибрида с геном устойчивости в гетерозиготном состоянии: F₁ Fizuma, F₁ E15B40897, F₁ DR2379TH, 2 гибрида – в гомозиготном состоянии: F₁ Таумур, F₁ Foronti и 2 контрольных линии. с отобранных растений было взято потомство F₂.

Образцы поколения F₂, у которых было диагностировано гомозиготное состояние гена или отсутствие его, были посеяны в количестве 50 растений к высадке; образцы с гетерозиготным состоянием гена устойчивости - по 100 растений.

Диагностика поколения F₂ была проведена в стадии семядолей, т.е. на самых ранних сроках. Результаты ПЦР-анализа второго поколения гибридов томата показали, что потомство гибридов F₁ Fizuma, F₁ E15B40897, F₁ DR2379TH разделились на устойчивые, неустойчивые и гетерозиготы, что доказало первичный результат анализа на стадии F₁. Остальные образцы разделения не показали. Подробные результаты представлены в таблице 2. Условные обозначения, указанные в таблице: *R* – наличие гена устойчивости в гомозиготном состоянии; *H* - наличие гена

устойчивости в гетерозиготном состоянии; S – отсутствие гена устойчивости.

Таблица 2 – Генетическая характеристика генотипов гибридов томата поколения F₂ по устойчивости к ВТМ

Гибрид	Фирма оригинатор	Результат генетического анализа, растений			
		R	H	S	Всего растений
№ 144/14	Линия (контроль)	0	0	50	50
№ 175/14	Линия (контроль)	50	0	0	50
F ₂ Таумур	Rijk Zwaan	50	0	0	50
F ₂ Fizuma	Enza Zaden	27	48	21	100
F ₂ Foronti	Semenis	50	0	0	50
F ₂ E15B40897	Enza Zaden	26	54	24	100
F ₂ DR2379TH	Semenis	26	48	28	100

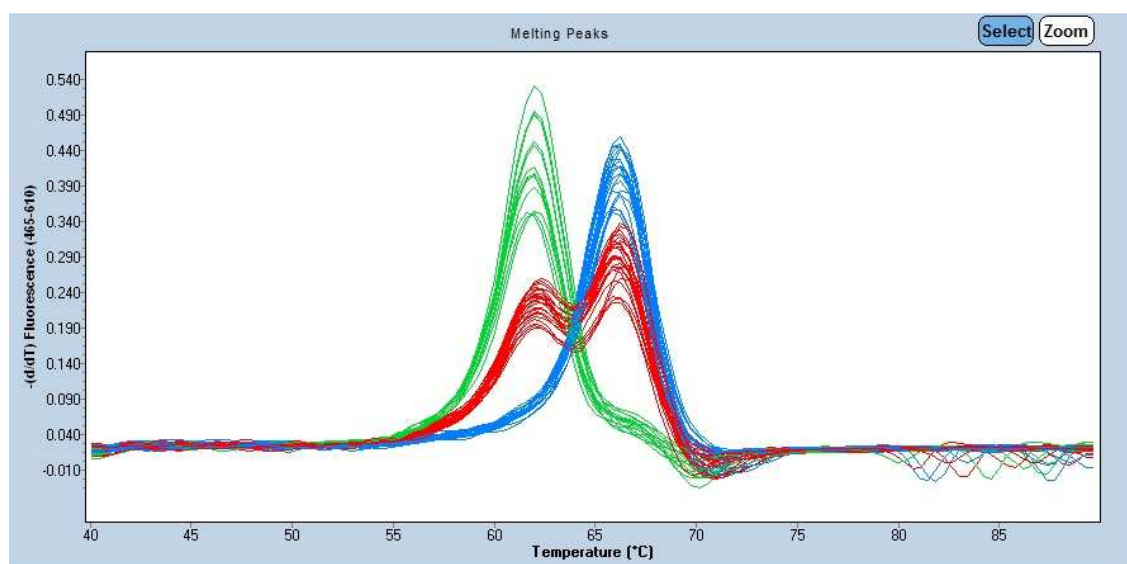


Рисунок 2 – Визуализация результатов генетического анализа по наличию генов устойчивости ВТМ у 80 растений поколения F₂ гибрида F₁ Fizuma, выполненных с использованием гибридизационных зондов Real-time PCRc

Разделение растений поколения F₂ в каждом опытном образце приближалось к соотношению 1:2:1, это позволяет утверждать, что состояние гена в гибридах F₁ было гетерозиготным. Ген устойчивости, идентифицированный в гибридах томата F₁ в гомозиготном состоянии, был унаследован растениями поколения F₂ в таком же состоянии.

После искусственного заражения всех растений в рассадном отделении, была проведена визуальная оценка всех образцов в теплице. Результаты оценки представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты оценки искусственного заражения растений томата поколения F₂

Гибрид	Фирма оригинатор	Результат визуальной оценки, растений		
		устойчивые	неустойчивые	Всего растений
№ 144/14	Линия (контроль)	0	50	50
№ 175/14	Линия (контроль)	50	0	50
F ₂ Тауыр	Rijk Zwaan	50	0	50
F ₂ Fizuma	Enza Zaden	79	21	100
F ₂ Foronti	Semenis	50	0	50
F ₂ E15B40897	Enza Zaden	76	24	100
F ₂ DR2379TH	Semenis	72	28	100

Из таблицы 3 видно, что на делянке неустойчивой линии поразились все растения, растения устойчивой линии, а также гибридов F₂ Тауыр, F₂ Foronti не поразились патогеном. В свою очередь на делянках с растениями F₂ Fizuma, F₂ E15B40897, F₂ DR2379TH было отмечено, что отношение числа устойчивых растений к числу неустойчивых стремится к отношению 3:1, что характерно для наследования доминантного гена у поколения F₂.

Результаты искусственного заражения подтвердили результаты, полученные при ПЦР-анализе. При этом с помощью генетического исследования можно определить точное состояние гена в растении, что нельзя определить методов искусственного заражения, так как между растениями с гетерозиготным и гомозиготным состоянием гена визуальных отличий найдено не было. Созданный маркер и методику ПЦР-анализа можно рекомендовать для широкого применения в селекционном процессе культуры томата.

Выводы

Исследование коллекции гибридов F1 показало, что современные гибриды имеют в своем генотипе ген устойчивости к вирусу табачной мозаики (ВТМ). Это было определено генетическим анализом и подтверждено испытанием с применением искусственного заражения.

Используемый в работе метод Real-Time PCR позволяет наиболее точно и быстро, по сравнению со стандартными методиками искусственного заражения, оценить изменчивость растения и идентифицировать аллели генов, отвечающие за устойчивость растения к патогенам.

Созданный маркер для идентификации наличия гена устойчивости в генотипе растений томата позволяет определить не только устойчивое растение или неустойчивое, но также показывает в каком состоянии находится ген, что очень важно для селекционера.

Литература

1. Будылин М.В. Обыкновенное чудо. Молекулярные маркеры в современной селекции // Гавриш дайджест. Технологии. Москва. 2015. – С. 149-151.
2. Буц А.В. Исследование коллекции гибридов томата F1 с устойчивостью к мучнистой росе для выращивания в зимних остекленных теплицах / А.В. Буц, Л.В. Цаценко // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2019. – №06(150). С. 143 – 155. Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2019/06/pdf/16.pdf>, 0,812 у.п.л.
3. Гавриш С.Ф. Будылин М.В. Использование молекулярных маркеров при создании гибридов томата, устойчивых к грибным заболеваниям // Гавриш. Москв – 2016.– №6. С. 24-33.
4. Жученко А. А.и др. Эколого-генетические основы селекции томатов //Кишинёв: Штиинца. – 1988. – С. 144-149.
5. Игнатова С.И. Роль наследственного потенциала по устойчивости у томата в системе –комплексной защиты в закрытом грунте// Гавриш. 2001. –№6. – С. 18-20.
6. Квасников Б.В. Методика селекции сортов и гибридов томата устойчивых к вирусу табачной мозаики в связи о его вариабельностью / Б.В. Квасников, С.И. Игнатова, Н.С. Горщикова - М.–, 1984. – 29 с.
7. Нгуен Т.Л. Комбинационная способность стерильных индетерминантных и фертильных детерминантных линий томата с групповой устойчивостью к заболеваниям // диссертация к.с.-х.н. Москва, 2015.– 134 с.
8. Пухальский В.А. К развитию идей Н.И. Вавилова по проблемам естественного и приобретенного иммунитета растений. // Вторая Всероссийская конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» Санкт-Петербург, 29 сентября – 2 октября 2008 г. Санкт- Петербург, 2008.– С.29-32.
9. Сайт Министерства сельского хозяйства Российской Федерации [Электронный ресурс] <http://mcx.ru/press-service/news/minselkhoz-ozhidaet-rekordnyy-urozhay-ovoshchey-v-2019-godu/>

10. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. – Вавиловский журнал генетики и селекции, 2013. – Т.17, № 4/2. – 11 с.
11. Хрусталева Л.И. Молекулярная цитогенетика в селекции растений /Известия ТСХА, выпуск 1, Москва, 2007. –С 45-55.
12. Щербань А.Б. Перспективы маркерно-ориентированной селекции томата *Solanum lycopersicum* L. // Вавиловский журнал генетики и селекции. №23 (5). 2019. –С. 534-541.
13. Moose S.P., Mumm R.H. Molecular plant breeding as the foundation for 21 century crop improvement // Plant Physiol. 2008. – V.147. – P.969–977.

REFERENCES

1. Budylin M.V. Obyknovennoye chudo. Molekulyarnyye markery v sovremennoy selektsii // Gavrish daydzhest. Tekhnologii. Moskva. 2015. – S. 149-151.
2. Buts A.V. Issledovaniye kollektzii gibridov tomata F1 s ustoychivostyu k muchnistoy rose dlya vyrashchivaniya v zimnikh osteklennykh teplitsakh / A.V. Buts. L.V. Tsatsenko // Politematicheskii setevoy elektronnyy nauchnyy zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta (Nauchnyy zhurnal KubGAU) [Elektronnyy resurs]. – Krasnodar: KubGAU. 2019. – №06(150). S. 143 – 155. Rezhim dostupa: <http://ej.kubagro.ru/2019/06/pdf/16.pdf>. 0.812 u.p.l.
3. Gavrish S.F. Budylin M.V. Ispolzovaniye molekulyarnykh markerov pri sozdanii gibridov tomata. ustoychivykh k gribnym zabolevaniyam // Gavrish. Moskv – 2016.– №6. S. 24-33.
4. Zhuchenko A. A.i dr. Ekologo-geneticheskiye osnovy selektsii tomatov //Kishinev: Shtiintsa. – 1988. – S. 144-149.
5. Ignatova S.I. Rol nasledstvennogo potentsiala po ustoychivosti u tomata v sisteme – kompleksnoy zashchity v zakrytom grunte// Gavrish. 2001. –№6. – S. 18-20.
6. Kvasnikov B.V. Metodika selektsii sortov i gibridov tomata ustoychivykh k virusu tabachnoy mozaiki v svyazi o ego variabelnostyu / B.V. Kvasnikov. S.I. Ignatova. N.S. Gorshchkova - M.–. 1984. – 29 s.
7. Nguyen T.L. Kombinatsionnaya sposobnost sterilnykh indeterminantnykh i fertilnykh determinantnykh liniy tomata s gruppovoy ustoychivostyu k zabolevaniyam // dissertatsiya k.s.-kh.n. Moskva. 2015.– 134 s.
8. Pukhalskiy V.A. K razvitiyu idey N.I. Vavilova po problemam estestvennogo i priobretennogo immuniteta rasteniy. // Vtoraya Vserossiyskaya konferentsiya «Sovremennyye problemy immuniteta rasteniy k vrednym organizmam» Sankt-Peterburg. 29 sentyabrya – 2 oktyabrya 2008 g. Sankt- Peterburg. 2008.– S.29-32.
9. Sayt Ministerstva selskogo khozyaystva Rossiyskoy Federatsii [Elektronnyy resurs] <http://mcx.ru/press-service/news/minselkhoz-ozhidaet-rekordnyy-urozhay-ovoshchey-v-2019-godu/>
10. Khlestkina E.K. Molekulyarnyye markery v geneticheskikh issledovaniyakh i v selektsii. – Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. 2013. – Т.17. № 4/2. – 11 s
11. Khrustaleva L.I. Molekulyarnaya tsitogenetika v selektsii rasteniy /Izvestiya TSKhA. vypusk 1. Moskva. 2007. –S 45-55
12. Shcherban A.B. Perspektivy markerno-oriyentirovannoy selektsii tomata *Solanum lycopersicum* L. // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. №23 (5). 2019. –S. 534-541.
13. Moose S.P., Mumm R.H. Molecular plant breeding as the foundation for 21 century crop improvement // Plant Physiol. 2008. – V.147. – R.969–977.