

Значение И Преимущества Маркер-Ориентированной Селекции (Mas) И Методов Генотипирования При Создании Высокоурожайных Гибридов Сладкого Перца, Пригодных Для Выращивания В Тепличных Условиях

Камилов Муроджон Мукумжонович,

доктор философии (PhD) по сельскохозяйственным наукам

ORCID ID: 0009-0006-9445-4485

Эсонов Садриддин Олимович,

директор Андижанской научно-опытной станции Научно-исследовательского института овощных, бахчевых культур и картофеля

ORCID ID: 0009-0007-7993-8656

Абдуллаев Исмоилжон Ибрахимжонович,

доктор философии (PhD) по сельскохозяйственным наукам, доцент

ORCID ID: 0000-0003-0222-0763

Рахмонов Шухратбек Хусанбоевич,

доктор философии (PhD) по сельскохозяйственным наукам

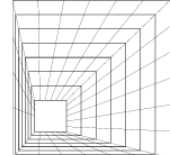
ORCID ID: 0009-0009-9264-4738

Андижанская научно-опытная станция Научно-исследовательского института овощных, бахчевых культур и картофеля, Андижан, Узбекистан.

Аннотация. В статье рассмотрены научно-методические основы, значение и практические преимущества применения маркер-ориентированной селекции (marker-assisted selection, MAS) и современных методов генотипирования при создании высокоурожайных гибридов F₁ сладкого перца (*Capsicum annuum* L.), пригодных для возделывания в защищённом грунте. Показано, что использование молекулярных маркеров, тесно сцепленных с генами устойчивости к вирусным, грибным и бактериальным болезням, а также с локусами хозяйственно ценных признаков, позволяет существенно сократить продолжительность селекционного цикла, повысить точность отбора и обеспечить пирамидирование нескольких генов устойчивости в одном генотипе. Приведены сведения о наиболее значимых генах и сцепленных с ними маркерах (локус L, Tsw, pvr, Bs2/Bs3, Me, Pun1, система ЦМС), дана сравнительная характеристика методов генотипирования (SSR, CAPS, SCAR, KASP, SNP-чипы, генотипирование методом секвенирования). Обоснована целесообразность внедрения технологий MAS в селекционные программы Андижанской научно-опытной станции для ускоренного создания конкурентоспособных тепличных гибридов перца.

Ключевые слова: сладкий перец, *Capsicum annuum*, маркер-ориентированная селекция, MAS, генотипирование, молекулярные маркеры, SNP, KASP, устойчивость к болезням, гибриды F₁, защищённый грунт, пирамидирование генов.

Abstract. The paper considers the scientific and methodological framework, importance and practical advantages of marker-assisted selection (MAS) and modern genotyping methods in developing high-yielding F₁ hybrids of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) suitable for greenhouse cultivation. It is shown that the use of molecular markers tightly linked to genes conferring resistance to viral, fungal and bacterial diseases, as well as to loci of economically valuable traits, considerably shortens the breeding cycle, increases selection accuracy and allows pyramiding of several resistance genes within a single genotype. Data are presented on the most important genes and their linked markers (the L locus, Tsw, pvr, Bs2/Bs3, Me genes, the CMS system), and a comparative assessment of genotyping methods (SSR, CAPS, SCAR, KASP, SNP arrays, genotyping-by-sequencing) is given. The



expediency of introducing MAS technologies into the breeding programmes of the Andijan Research and Experimental Station for the accelerated development of competitive greenhouse pepper hybrids is substantiated.

Keywords: sweet pepper, *Capsicum annuum*, marker-assisted selection, MAS, genotyping, molecular markers, SNP, KASP, disease resistance, F1 hybrids, protected cultivation, gene pyramiding.

Введение. Сладкий перец (*Capsicum annuum* L.) относится к числу наиболее ценных и востребованных овощных культур мира. Его плоды отличаются высоким содержанием аскорбиновой кислоты, каротиноидов, флавоноидов и других биологически активных веществ, что определяет их значение как для свежего потребления, так и для перерабатывающей промышленности. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), мировое производство перца и стручкового перца превышает 38 млн тонн в год, а площади его возделывания устойчиво расширяются, в том числе в условиях защищённого грунта.

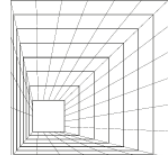
В Республике Узбекистан овощеводство защищённого грунта развивается ускоренными темпами. Тепличное возделывание сладкого перца обеспечивает получение продукции во внесезонный период, повышает урожайность с единицы площади и создаёт условия для экспорта. Однако интенсивная тепличная культура предъявляет к сортам и гибридам особые требования: высокую и стабильную урожайность, дружность плодоношения, выравненность и товарность плодов, а также комплексную устойчивость к болезням, поражающим растения в условиях повышенной влажности и ограниченного севооборота.

Наиболее полно этим требованиям отвечают гетерозисные гибриды первого поколения (F_1). Гибриды F_1 превосходят сорта-популяции по урожайности, однородности растений и плодов, а также позволяют объединять в одном генотипе признаки, привнесённые обеими родительскими линиями. Вместе с тем создание конкурентоспособных тепличных гибридов классическими методами селекции связано со значительными затратами времени и труда: выведение и стабилизация родительских линий, их оценка на устойчивость и комбинационную способность занимают, как правило, 8–12 лет.

Классическая селекция, основанная преимущественно на фенотипической оценке, имеет ряд объективных ограничений. Проявление многих хозяйственно ценных признаков зависит от условий среды, что снижает надёжность отбора; оценка устойчивости к болезням требует создания искусственного инфекционного фона и не всегда воспроизводима; рецессивные и полигенные признаки трудно контролировать в ранних поколениях. Особые сложности возникают при необходимости объединить в одном генотипе несколько генов устойчивости к разным патогенам (пирамидирование), поскольку фенотипически различить растения, несущие один или несколько генов, зачастую невозможно.

Эффективным инструментом преодоления этих ограничений является маркер-ориентированная селекция (marker-assisted selection, MAS), основанная на использовании молекулярных маркеров — участков ДНК, тесно сцепленных с генами или локусами количественных признаков (QTL). MAS позволяет вести отбор непосредственно на уровне генотипа, независимо от фазы развития растения и условий среды, что существенно повышает точность и скорость селекционного процесса. Развитие технологий генотипирования — от анализа микросателлитов (SSR) до высокопроизводительного анализа однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) — сделало эти подходы доступными для практической селекции овощных культур, включая перец.

Цель настоящей работы — обобщить научно-методические основы, раскрыть значение и практические преимущества применения маркер-ориентированной селекции и современных методов генотипирования при создании высокоурожайных гибридов сладкого перца, пригодных для тепличного возделывания, а также обосновать целесообразность их внедрения в селекционные программы Андижанской научно-опытной станции.



Материалы и методы

Аналитико-обобщающие исследования выполнены в лаборатории селекции овощных культур Андижанской научно-опытной станции Научно-исследовательского института овощебахчевых культур и картофеля, расположенной в Андижанском районе Андижанской области Республики Узбекистан. В качестве объекта рассмотрения использованы местные и интродуцированные образцы сладкого перца (*Capsicum annuum* L.) из коллекции станции, а также опубликованные научные данные о молекулярно-генетических основах селекции этой культуры.

Растительный материал и создание популяций. Основой для маркер-ориентированного отбора служат расщепляющиеся популяции (F_2 , беккроссы, рекомбинантные инбредные линии), получаемые при гибридизации контрастных по целевым признакам родительских форм. Фенотипическую оценку проводят по стандартным методикам: определяют урожайность и её элементы (число и масса плодов, толщина перикарпия), товарные качества плодов, а также устойчивость к болезням на искусственном и естественном инфекционном фоне.

Выделение ДНК и молекулярный анализ. Геномную ДНК выделяют из молодых листьев с использованием модифицированного СТАВ-метода; качество и концентрацию оценивают спектрофотометрически и электрофоретически. Для генотипирования применяют различные типы молекулярных маркеров — микросателлитные (SSR), маркеры на основе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов амплифицированных участков (CAPS/dCAPS), маркеры на основе секвенированных характеризованных участков (SCAR), а также однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), анализируемые методами KASP, на SNP-чипах или методом генотипирования секвенированием (GBS).

Полимеразную цепную реакцию проводят по протоколам, оптимизированным для каждого типа маркеров; продукты амплификации разделяют электрофорезом в агарозном или полиакриламидном геле либо анализируют флуоресцентными методами. Анализ сцепления маркеров с целевыми генами, картирование QTL и обработку данных выполняют с применением специализированного программного обеспечения (JoinMap, QTL IciMapping, TASSEL). Достоверность различий оценивают методами дисперсионного анализа.

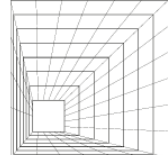
Результаты и обсуждение

Молекулярные маркеры хозяйственно ценных признаков перца. К настоящему времени для сладкого перца идентифицированы и картированы многочисленные гены и локусы, определяющие устойчивость к болезням и качество плодов, а также разработаны сцепленные с ними молекулярные маркеры, пригодные для практической селекции. Наибольшее значение для тепличного производства имеют гены устойчивости к вирусным заболеваниям, фитофторозу, бактериальной пятнистости и галловым нематодам, а также локусы, контролирующие окраску, форму и качество плодов и систему мужской стерильности, используемую при производстве гибридных семян. Основные из них представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Важнейшие хозяйственно ценные признаки сладкого перца и сцепленные с ними молекулярные маркеры

Признак	Ген / локус	Тип маркера	Значение для тепличного производства
Устойчивость к тобамовирусам (BTM, BTMP)	L1–L4 (локус L)	CAPS, SCAR	Защита от вирусной мозаики в условиях монокультуры
Устойчивость к вирусу бронзовости томата (TSWV)	Tsw	SCAR, CAPS	Предотвращение массовых потерь урожая в теплицах



Устойчивость к потивирусам (PVY, TEV)	pvr1/pvr2 (eIF4E), pvr4	CAPS, KASP	Комплексная вирусоустойчивость
Устойчивость к фитофторозу	QTL Phyto5, CaDMR1	SSR, SNP	Снижение корневых и стеблевых гнилей при высокой влажности
Устойчивость к бактериальной пятнистости	Bs2, Bs3	SCAR, SNP	Устойчивость к Xanthomonas
Устойчивость к мучнистой росе	QTL (Leveillula taurica)	SSR, SNP	Снижение потерь листового аппарата
Устойчивость к галловой нематодe	Me1, Me3, Me7	SCAR, SSR	Защита корневой системы в бессменной культуре
Цитоплазматическая мужская стерильность	S-цитоплазма, Rf	CAPS, SCAR	Основа производства гибридных семян F1
Острота / содержание капсаицина	Pun1 (локус C)	InDel, SCAR	Контроль отсутствия остроты у сладкого перца
Окраска плода	c1, c2, y (CCS, PSY)	CAPS, SNP	Формирование товарной окраски (красная, жёлтая)
Завязываемость плодов / партенокарпия	QTL	SNP	Стабильное плодоношение при низкой освещённости

Примечание: приведены наиболее изученные гены и маркеры, применимые в практической селекции перца.

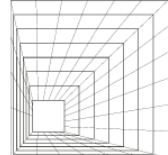
Данные таблицы 1 показывают, что для большинства важнейших признаков сладкого перца уже разработаны надёжные молекулярные маркеры. Это создаёт методическую базу для перехода от традиционного фенотипического отбора к целенаправленному отбору на уровне генотипа. Особую ценность представляют маркеры генов устойчивости к вирусам (локус L, Tsw, pvr), поскольку в тепличных условиях монокультуры вирусные болезни наносят наибольший ущерб, а их визуальная диагностика на ранних этапах затруднена.

Сравнительная характеристика методов генотипирования. Выбор метода генотипирования определяется задачами селекционной программы, числом анализируемых образцов и локусов, а также имеющимися ресурсами. В таблице 2 приведена сравнительная характеристика основных методов, применяемых в маркер-ориентированной селекции перца.

Таблица 2.

Сравнительная характеристика методов генотипирования, применяемых в селекции перца

Метод	Пропускная способность	Относительная стоимость	Точность	Основная область применения
SSR (микросателлиты)	Низкая — средняя	Средняя	Высокая	Картирование, оценка разнообразия
CAPS / dCAPS	Низкая	Низкая	Высокая	Отбор по отдельным генам



SCAR	Низкая — средняя	Низкая	Высокая	Скрининг устойчивости
KASP (SNP)	Средняя — высокая	Низкая	Очень высокая	Массовый MAS, пирамидирование
SNP-чипы (массивы)	Высокая	Средняя — высокая	Очень высокая	Полногеномный анализ, GS
Генотипирование секвенированием (GBS)	Очень высокая	Высокая	Очень высокая	Открытие маркеров, GWAS

Примечание: GS — геномная селекция; GWAS — полногеномный поиск ассоциаций.

Как следует из таблицы 2, для рутинного маркер-ориентированного отбора наиболее рационально применение технологии KASP, сочетающей высокую точность, относительно низкую стоимость единичного анализа и возможность автоматизации. Для этапов открытия новых маркеров, картирования QTL и полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) целесообразно использовать генотипирование методом секвенирования и SNP-чипы. Микросателлитные и CAPS/SCAR-маркеры сохраняют значение для небольших селекционных программ благодаря доступности оборудования.

Общая схема маркер-ориентированной селекции. Последовательность этапов маркер-ориентированной селекции при создании тепличных гибридов сладкого перца представлена на рисунке 1. Процесс включает создание расщепляющихся популяций, их параллельную фенотипическую и молекулярно-генетическую оценку, картирование целевых локусов и отбор желательных генотипов, что в итоге обеспечивает ускоренное получение высокоурожайных гибридов F₁.



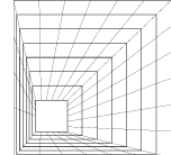


Рисунок 1. Основные этапы маркер-ориентированной селекции (MAS) при создании тепличных гибридов перца

Сокращение продолжительности селекционного цикла. Одним из главных преимуществ MAS является существенное сокращение продолжительности селекционного процесса. Отбор на уровне ДНК позволяет проводить браковку нежелательных генотипов уже на стадии проростков, без ожидания проявления признака и без создания трудоёмкого инфекционного фона. Сравнительная оценка продолжительности отдельных этапов селекции при классическом и маркер-ориентированном подходах приведена на рисунке 2.

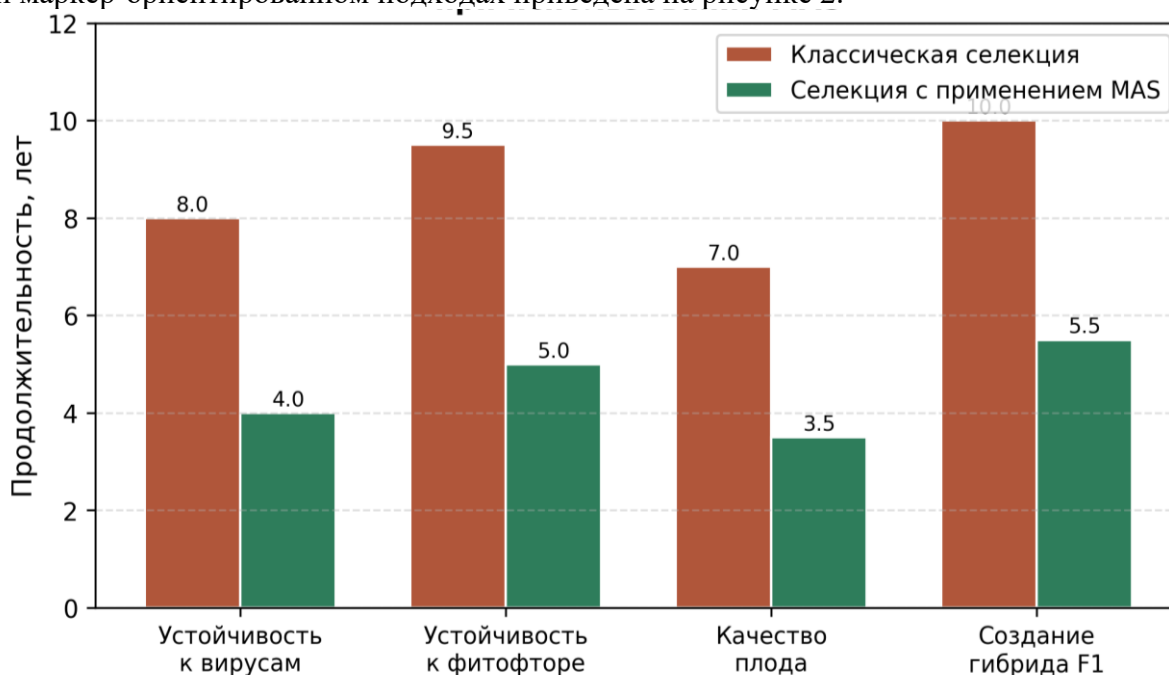
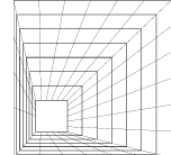


Рисунок 2 — Сокращение продолжительности селекционного цикла при использовании MAS

Приведённые на рисунке 2 данные свидетельствуют, что применение молекулярных маркеров позволяет сократить сроки создания устойчивых форм и гибридов практически вдвое. Так, продолжительность работ по введению устойчивости к вирусам сокращается с 8 до 4 лет, а полный цикл получения гибрида F₁ — с 10 до 5,5 лет. Это обеспечивает более быстрый вывод новых конкурентоспособных гибридов на рынок и повышает эффективность использования селекционных ресурсов станции.

Типы маркеров и точность отбора. Структура применения различных типов молекулярных маркеров в современной селекции перца отражает переход к высокопроизводительным SNP-технологиям (рисунок 3). При этом микросателлитные и CAPS-маркеры сохраняют существенную долю благодаря надёжности и доступности.

Важнейшим преимуществом MAS является повышение точности отбора. При фенотипическом отборе значительная часть решений принимается в условиях модифицирующего влияния среды, тогда как молекулярные маркеры отражают непосредственно генотип растения. Как показано на рисунке 4, точность отбора возрастает от 58 % при чисто фенотипической оценке до 82–89 % при маркер-ориентированном отборе по одному или нескольким генам и достигает 94 % при геномной селекции.



Структура применения типов молекулярных маркеров в селекции перца

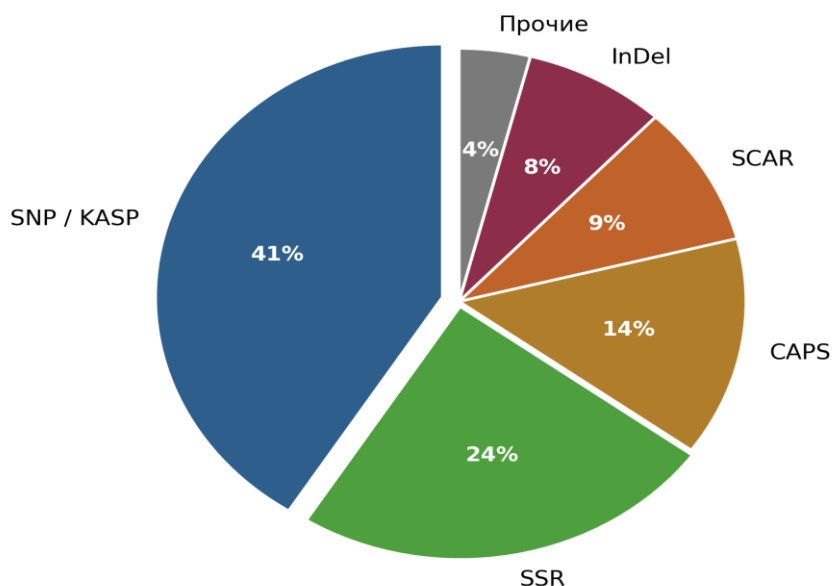


Рисунок 3. Структура применения типов молекулярных маркеров в селекции перца

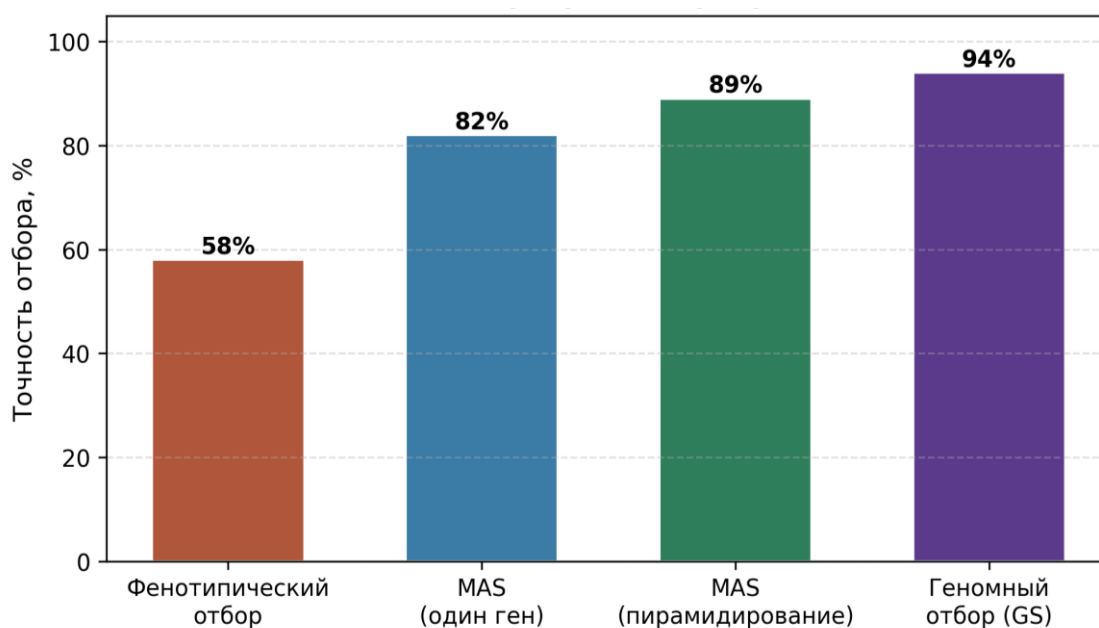
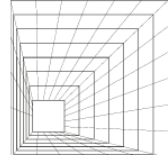


Рисунок 4. Повышение точности отбора при использовании молекулярных маркеров

Пирамидирование генов устойчивости. Существенным преимуществом MAS является возможность пирамидирования — объединения в одном генотипе нескольких генов устойчивости к разным патогенам или к разным расам одного патогена. Фенотипически растение, несущее один ген устойчивости, неотличимо от растения с несколькими генами, поэтому классическими методами такое объединение практически неосуществимо. Использование маркеров, специфичных для каждого гена (например, различных аллелей локуса L для устойчивости к тобамовирусам в сочетании с геном Tsw и генами pvr), позволяет надёжно отбирать растения с полным комплексом целевых генов. Пирамидирование обеспечивает более широкую и длительную (durable) устойчивость, что особенно важно в условиях бессменной тепличной культуры.



Применение MAS при производстве гибридных семян. Промышленное производство гибридных семян перца основано на использовании систем контроля опыления, важнейшей из которых является цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС). Молекулярные маркеры, разработанные для идентификации типа цитоплазмы (стерильной S или нормальной N) и генов-восстановителей фертильности (Rf), позволяют быстро и надёжно определять генотип родительских линий без проведения трудоёмких тестерных скрещиваний. Это ускоряет создание материнских стерильных и отцовских фертильных линий, повышает чистоту гибридных семян и снижает затраты на их производство. Таким образом, MAS охватывает не только этап создания гибрида, но и технологию его семеноводства.

Перспективы внедрения на Андижанской научно-опытной станции. Внедрение маркер-ориентированной селекции в программы Андижанской научно-опытной станции открывает реальные возможности для ускоренного создания тепличных гибридов сладкого перца, сочетающих высокую урожайность, товарность плодов и комплексную устойчивость к болезням. Первоочередными задачами являются: молекулярная паспортизация коллекционных образцов; отбор источников устойчивости к вирусам, фитофторозу и бактериальной пятнистости с помощью сцепленных маркеров; создание родительских линий с пирамидированными генами устойчивости; а также применение маркеров системы ЦМС в семеноводстве гибридов. Реализация этих направлений позволит повысить конкурентоспособность отечественных гибридов и снизить зависимость тепличных хозяйств региона от импортных семян.

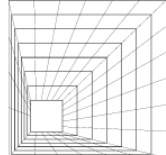
Заключение. Проведённый анализ показывает, что маркер-ориентированная селекция и современные методы генотипирования являются эффективным инструментом создания высокоурожайных гибридов сладкого перца, пригодных для возделывания в защищённом грунте. Основные преимущества применения MAS заключаются в следующем:

- сокращение продолжительности селекционного цикла в 1,8–2 раза за счёт отбора на уровне ДНК на ранних стадиях развития растений;
- повышение точности отбора с 58 % при фенотипической оценке до 82–94% при использовании молекулярных маркеров и геномной селекции;
- возможность пирамидирования нескольких генов устойчивости к вирусным, грибным и бактериальным болезням в одном генотипе, что обеспечивает длительную комплексную устойчивость;
- надёжная идентификация родительских линий по системе ЦМС и генам-восстановителям, что повышает эффективность семеноводства гибридов F1;
- снижение затрат труда и средств на создание искусственных инфекционных фонов и многолетние фенотипические оценки.

Внедрение технологий маркер-ориентированной селекции в программы Андижанской научно-опытной станции позволит ускорить создание конкурентоспособных отечественных гибридов сладкого перца с высокой урожайностью и комплексной устойчивостью к болезням, что отвечает задачам развития тепличного овощеводства Республики Узбекистан и укрепления её продовольственной безопасности.

Список литературы

1. Collard B. C. Y., Mackill D. J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century // Philosophical Transactions of the Royal Society B. — 2008. — Vol. 363, № 1491. — P. 557–572.
2. Kim S., Park M., Yeom S.-I. et al. Genome sequence of the hot pepper provides insights into the evolution of pungency in Capsicum species // Nature Genetics. — 2014. — Vol. 46, № 3. — P. 270–278.
3. Robbins M. D., Masud M. A. T., Panthee D. R. et al. Marker-assisted selection for tobamovirus resistance in pepper // HortScience. — 2019. — Vol. 54. — P. 105–110.



4. Jeong H.-J., Kwon J.-K., Pandeya D. et al. A survey of natural and ethyl methanesulfonate-induced variations of eIF4E using high-resolution melting analysis in Capsicum // *Molecular Breeding*. — 2012. — Vol. 29. — P. 349–360.
5. Devran Z., Kahveci E., Özkaynak E. et al. Development of molecular markers for the Me1 gene conferring resistance to root-knot nematodes in pepper // *Australasian Plant Pathology*. — 2015. — Vol. 44. — P. 379–384.
6. Yang H., Zhao T., Jiang J. et al. Mapping and screening of the tomato spotted wilt virus resistance gene Tsw based on bulked segregant analysis // *BMC Plant Biology*. — 2020. — Vol. 20. — P. 15.
7. Truong H. T. H., Kim K.-T., Kim S. et al. Identification of QTLs for resistance to *Phytophthora capsici* in *Capsicum annuum* // *Molecular Breeding*. — 2012. — Vol. 29. — P. 883–893.
8. Semagn K., Babu R., Hearne S., Olsen M. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) // *Molecular Breeding*. — 2014. — Vol. 33. — P. 1–14.
9. Ashrafi H., Hill T., Stoffel K. et al. De novo assembly of the pepper transcriptome (*Capsicum annuum*): a benchmark for in silico discovery of SNPs, SSRs and candidate genes // *BMC Genomics*. — 2012. — Vol. 13. — P. 571.
10. Lee J., Nam J.-Y., Kim H. et al. Marker-assisted pyramiding of disease resistance genes in pepper // *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. — 2021. — Vol. 62. — P. 401–412.
11. Jung J. K., Park S. W., Liu W. Y., Kang B.-C. Discovery of single nucleotide polymorphism in *Capsicum* and SNP marker development // *Theoretical and Applied Genetics*. — 2010. — Vol. 121. — P. 1381–1391.
12. Wang L., Zhang B., Li J. et al. Marker-assisted selection for cytoplasmic male sterility and fertility restoration in pepper // *Scientia Horticulturae*. — 2018. — Vol. 235. — P. 265–271.
13. Foolad M. R., Panthee D. R. Marker-assisted selection in tomato and pepper breeding // *Critical Reviews in Plant Sciences*. — 2012. — Vol. 31. — P. 93–123.
14. Xu Y., Crouch J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice // *Crop Science*. — 2008. — Vol. 48. — P. 391–407.
15. Абдуллаев И. И. Селекция и семеноводство овощных культур в условиях защищённого грунта. — Ташкент, 2024. — 186 с.