

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ –
МСХА имени К.А. ТИМИРЯЗЕВА»
(ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева)

На правах рукописи

Осмнина Екатерина Васильевна

СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ
ПАРТЕНОКАРПИЧЕСКОГО ОГУРЦА С ПРИМЕНЕНИЕМ
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ И КЛАССИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Специальность: 4.1.2 – селекция, семеноводство и биотехнология растений

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель: д.с.-х.н.,
профессор Монахос С.Г.

Москва – 2024

Оглавление	
Введение.....	5
Актуальность темы исследования и ее разработанность	8
Цели и задачи исследования	10
Научная новизна	10
Теоретическая и практическая значимость работы	11
Положения, выносимые на защиту.....	13
Степень достоверности и апробация результатов исследований.....	14
Апробация результатов	14
Публикация результатов исследований	15
Личный вклад соискателя	15
Структура и объем диссертационной работы.....	15
Благодарности.....	15
1. Обзор литературы.....	16
1.1 Происхождение, распространение, значение	16
1.2 Основные направления селекции огурца.....	18
1.3 Технологии создания удвоенных гаплоидов огурца.....	22
1.3.1 Партеногенез	27
1.3.2 Андрогенез.....	28
1.3.3 Гиногенез	32
1.4 Факторы, влияющие на эффективность технологии создания удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза	34
1.3.1 Генотип донорных растений	34
1.3.2 Условия выращивания донорных растений.....	35
1.3.3 Стадия развития экспланта.....	36
1.3.4 Температурная предобработка	38
1.3.4 Условия культивирования	38
1.3.5 Состав питательной среды	39
1.5 Селекция огурца на устойчивость к пероноспорозу.....	42
1.5.1 Распространение, биологические особенности развития ложной мучнистой росы.....	42

1.5.2	Генетический контроль устойчивости к пероноспорозу	46
1.6	Женский тип цветения огурца	47
1.6.1	Схемы селекции и семеноводства F1-гибридов огурца.....	48
1.6.2	Генетический контроль женского типа цветения.....	50
2.	Материалы и методы	53
2.1	Место выполнения исследования.....	53
2.2	Изучение влияния факторов индукции гиногенеза огурца	53
2.2.1	Растительный материал.....	53
2.2.2	Условия выращивания растений-доноров изолированных семязачатков	53
2.2.3	Культура изолированных семязачатков, культура семязачатков в составе фрагментов завязей.....	54
2.2.4	Изучение влияния различных факторов на частоту эмбриогенеза.....	56
2.3	Оценка генетической коллекции линий огурца по степени проявления гиноцийности, по «силе» аллелей гена <i>F</i>	58
2.4	Изучение устойчивости новых гибридных комбинаций партенокарпического огурца к ложной мучнистой росе	59
2.4.1	Погодно-климатические условия проведения полевых опытов	60
2.5	Статистическая обработка	62
3.	Результаты и обсуждение.....	63
3.1	Изучение влияния различных факторов на частоту индукции гиногенеза.....	63
3.1.1	Изучение влияния типа экспланта на частоту индукции гиногенеза ..	63
3.1.2	Изучение влияния генотипа донорного растения на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца	69
3.1.3	Изучение влияния гидролизата казеина на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.....	70
3.1.4	Изучение влияния сахаров в индукционной питательной среде на частоту эмбриогенеза.....	73
3.1.5	Изучение влияния стадии развития экспланта на частоту эмбриогенеза	76
3.1.6	Изучение влияния глутатиона на частоту индукции гиногенеза	77

3.1.7 Изучение влияния сочетания регуляторов роста TDZ и 2,4-D на частоту индукции гиногенеза	79
3.1.8 Изучение влияния путресцина на частоту индукции гиногенеза	81
3.2 Оценка проявления женского типа цветения и других экономически ценных признаков	84
3.2.1 Оценка аллельного состояния гена <i>F</i> материнских линий партенокарпического огурца	84
3.2.2 Оценка хозяйственно-ценных признаков гибридных комбинаций и ОКС линий в условиях защищенного грунта	88
3.3 Оценка устойчивости к пероноспорозу и продуктивности гибридных комбинаций и ОКС линий огурца	100
Заключение	107
Рекомендации производству	109
Библиографический список	111
Приложения	125

Введение

Одно из важнейших направлений в сельском хозяйстве – овощеводство, играющее существенную роль в обеспечении населения продуктами питания высокой биологической ценности. Для обеспечения продовольственной безопасности страны необходимо, чтобы доля импортной продукции не превышала 25% от общего объема производимой продукции. Высокие питательные свойства овощной продукции, в т.ч. огурца, обеспечиваются коммерческими F1-гибридами отечественной селекции. F1-гибриды обладают адаптивностью к различным условиям выращивания и устойчивостью к местным болезням и вредителям (Пивоваров В.Ф. в соавт., 2017, Солдатенко А.В., Пышная О.Н., 2018).

Огурец, как культура сравнительно короткого срока созревания, широкой универсальной применимости и постоянного спроса, занимает заметное положение среди сельскохозяйственных культур в России. Это обеспечивает стабильность спроса и рынка сбыта, причем более 85% теплиц в стране отводится под огурцы. По данным FAOSTAT за 2021 год Россия заняла 6-ое место по посевным площадям, занимаемым огурцами - более 38 тыс. га. По показателю урожайности Российская Федерация находится на 46-ом месте (Домблидес Е.А., 2019).

В современной практике сельского хозяйства активно используют F1-гибриды, превосходящие по ряду характеристик сорта культурных растений. Гетерозисные гибриды отличаются высокой скороспелостью, дружным созреванием, улучшенной регулярностью формирования товарной продукции и высокой урожайностью. Благодаря доминантному или полудоминантному наследованию устойчивости к болезням, создание устойчивых гибридов не представляет проблем. Одновременно в условиях рыночной экономики особое внимание уделяется защите интеллектуальной собственности селекционеров, и в данном аспекте гибриды оказываются эффективнее сортов. Однако одним из существенных недостатков коммерческих F1-гибридов длительный срок их

создания, связанный с получением чистых гомозиготных линий (Gałazka J., Niemirowicz-Szczytt K., 2013).

Ускорение селекционного процесса достигается за счет активного внедрения биотехнологических методов. Одним из биотехнологических методов, способствующих существенному сокращению времени на создание чистых линий, является технология создания удвоенных гаплоидов (DH). Применение данной технологии исключает необходимость процесса принудительного самоопыления и сокращает сроки создания чистых гомозиготных линий с более чем 4 лет до 1 года в случае огурца (Dong Y.Q. et al., 2016, Домблides Е.А., 2019). Технологии создания удвоенных гаплоидов существенно повышают эффективность процесса селекции, поскольку обеспечивают возможность более быстрого отбора желаемых комбинаций генов за счет возможности анализировать как доминантные, так и рецессивные признаки. Это позволяет исключить из процесса селекции генотипы с летальными генами в гетерозиготном состоянии. В отличие от классических методов селекции, использование удвоенных гаплоидов позволяет получать 100% гомозиготные чистые линии, что является значимым преимуществом (Kurtar E.S., 2020).

DH-технологии также находят широкое применение в фундаментальных исследованиях: в картировании локусов количественных признаков (QTL) и в геномном анализе у видов сельскохозяйственных культур, характеризующихся высокой гетерозиготностью. Технология создания удвоенных гаплоидов играет важную роль в исследованиях в области генетики и эмбриологии растений, обеспечивая возможность изучения генетических взаимодействий, процессов эмбрионального развития и мутагенеза (Murovec and Bohanec 2011, Dong et al., 2016).

Основой технологии создания удвоенных гаплоидов является стимуляция перехода гаплоидных клеток мужского или женского гаметофита с гаметофитного пути развития на спорофитный при помощи различных

индуцирующих факторов, что в конечном итоге приводит к образованию эмбриоидов или морфогенного каллуса (Dong Y. Q. et al., 2016).

Существующие опубликованные протоколы производства удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза требуют дополнительной модификации и оптимизации для возможности использования технологии создания удвоенных гаплоидов в рутинном производстве коммерческих F1-гибридов. На индукцию гиногенеза влияет ряд факторов, требующих изучения, таких как генотип донорного растения, условия выращивания донорных растений, тип экспланта, тип питательной среды и ее компоненты, наличие температурной обработки (Shalaby T.A., 2007; Li J.W. et al., 2013).

Интенсификация селекционного процесса может быть достигнута за счет использования гиноцийных линий с сильным проявлением женского пола в двухлинейной схеме создания F1-гибридов партенокарпического огурца на базе моноцийных линий. При скрещивании материнских линий с высокой степенью проявления женского пола с моноцийными линиями полученный F1-гибрид будет иметь женский тип цветения. Таким образом, данная схема создания F1-гибридов огурца позволяет избежать обработки отцовского компонента раствором нитрата серебра для индукции формирования мужских цветков, что существенно снижает трудозатраты (Шамшина А. В., 2004, Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А., 2018).

Согласно исследованиям Пыженкова В.И. (1981) выраженность женского пола контролируется 4 аллелями гена *F*. Степень усиления женского пола усиливается в следующем порядке: $F'' > F' > F > f$. Следовательно возникает необходимость в оценке материнских линий партенокарпического огурца на женский тип цветения и выявление линий, обладающих сильными аллелями гена *F*, для упрощения селекционного процесса и гибридного семеноводства.

Одним из способов, позволяющих значительно повысить продуктивность сельскохозяйственных культур, помимо использования гетерозисных F1-гибридов, является создание сортов и F1-гибридов, устойчивых к основным заболеваниям. Пероноспороз – заболевание, приводящее к значительному

снижению урожайности у огурца, является одним из наиболее распространенных. Создание F1-гибридов, высоко устойчивых к данному заболеванию, осложняется полигенным характером наследования. К настоящему времени большая часть F1-гибридов и сортов являются неустойчивыми к ложной мучнистой росе (Коротцева И. Б., 2020). При этом существующие F1-гибриды, обладающие устойчивостью к пероноспорозу, в основном являются пчелоопыляемыми. В условиях снижения численности насекомых-опылителей партенокарпические F1-гибриды являются альтернативным способом сохранения высокой урожайности (Murphy J. T. et al., 2022). Таким образом, возникает необходимость в создании партенокарпических F1-гибридов огурца, обладающих высокой устойчивостью к ложной мучнистой росе.

Актуальность темы исследования и ее разработанность

Первый протокол по созданию удвоенных гаплоидов огурца на основе гиногенеза с использованием культуры изолированных семязачатков был представлен Robert Dirks и запатентован в 1996 году (US Patent 5492827). Дальнейшие исследования, посвященные анализу процесса гиногенеза, были проведены несколькими научными группами (Gemes-Juhasz et al., 1997, Diao et al., 2009, Moqbeli E. et al., 2013, Li J. W. et al., 2013, Tantasawat P. A. et al., 2015, Golabadi M. et al., 2017, Домблидес Е.А. и др., 2019, Deng Y. et al., 2020). Несмотря на обширные исследования в этой области, эффективность протоколов до сих пор остается недостаточной. Например, частота эмбриогенеза, согласно ряду исследований, варьирует от 0,12 до 18,4 эмбриоидов на завязь. В работе Diao et al. (2009) удалось достичь высокой частоты образования эмбриоидов - 89,4% в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.

Множество факторов влияют на индукцию гиногенеза и требуют дальнейшего изучения, включая генотип донорного растения, условия выращивания и подготовки растений, тип экспланта, стадию развития экспланта, состав питательных сред и термальную обработку. Изучение технологии

создания удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза является необходимым для повышения частоты эмбриогенеза.

Впервые женская форма огурца была обнаружена Н.Н. Ткаченко в 1929 году. Позднее Ткаченко предложил использовать данную форму для создания F1-гибридов. Согласно многочисленным исследованиям, наследование пола у огурца контролируется взаимодействием 2 основных генов: *F*, *M*. Некоторые исследователи предполагают наличие дополнительных генов *A*, *gy*, *In-F*, *Tr*, *m2*, участвующих в регуляции пола огурца (Pawełkowicz M. E. et al., 2019, Luo H., Zhang H, 2023). Наследование пола осложняется не только полигенами, но и высокой зависимостью от условий выращивания (Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А., 2016). Пыженков В.И. (1981) впервые предположил наличие множественного аллелизма гена *F*, контролирующего при взаимодействии с геном *M* проявление женского пола. Оценка материнских линий на женский тип цветения по силе аллелей гена *F* позволяет выявить линии с сильной выраженностью женского пола с целью дальнейшего их использования в двухлинейной схеме создания F1-гибридов огурца.

Ложная мучнистая роса (пероноспороз) является наиболее вредоносным заболеванием огурца в условиях открытого грунта и в теплицах в осеннем культурообороте. В результате поражения возбудителем снижение урожайности у огурца может достигать более 40 % (Черненко В.Л. и др., 2014, Тимошенко Н.Н., 2016). В настоящее время большинство сортов и гибридов огурца демонстрируют недостаточную устойчивость к ложной мучнистой росе, что существенно увеличивает риск возникновения этого заболевания в различных климатических зонах. Это обуславливает необходимость активного поиска источников устойчивости к пероноспорозу для создания новых коммерческих F1-гибридов. Над этими проблемами работает ряд исследователей (Налобова В.Л., 2005, Портянкин А.Е., 2006, Медведев, А.В., 2008, Гринько Н.Н., 2012, Коротцева И. Б., 2020 и др.).

Цели и задачи исследования

Цель исследования: изучение факторов, влияющих на частоту эмбриогенеза технологии создания удвоенных гаплоидов при помощи гиногенеза, оценить гиноцийные линии партенокарпического огурца по аллельному составу гена *F*, оценить гибридные комбинации по устойчивости к ложной мучнистой росе.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние типа экспланта на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца;
2. Изучить влияние стадии развития экспланта на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца;
3. Изучить влияние компонентов индукционной питательной среды: гидролизата казеина (250 мг/л, 500 мг/л), сахара (глюкоза 3 %), глутатиона (10 мг/л), сочетания регуляторов роста TDZ и 2,4-D на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца;
4. Изучить генетическую коллекцию линий партенокарпического огурца по степени проявления гиноцийности, дифференцировать линии по аллелям гена *F*;
5. Оценить комбинационную способность гиноцийных линий партенокарпического огурца, содержащих «сильные» алелли гена *F*, по основным хозяйственно-ценным признакам;
6. Изучить устойчивость новых гибридных комбинаций партенокарпического огурца к ложной мучнистой росе, выделить перспективные с комплексом экономически значимых признаков.

Научная новизна

Впервые установлено, что замена 3 % сахарозы в индукционной питательной среде MS на 3 % глюкозу значительно повышает частоту эмбриогенеза в 5-6 раз у образцов огурца с низкой эмбриогенной способностью.

Впервые показано, что изоляция и инокуляция на индукционную питательную среду MS экспланта из завязи отобранной в стадии полураскрытого цветка значимо более, чем в 2 раза, повышает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей у образцов огурца, отличающихся низкой эмбриогенной способностью.

Впервые выявлено, что использование антиоксиданта глутатиона в концентрации 10 мг/л в индукционной питательной среде повышает частоту формирования эмбриоидов в 1,5-2 раза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.

Впервые установлено, что добавление гидролизата казеина в индукционную питательную среду в концентрации 250 мг/л повышает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца более, чем в 2 раза (с 10,9 до 26,8 эмбр./завязь) у не менее чем половины образцов.

Впервые выявлено, что добавление в индукционную питательную среду регуляторов роста TDZ и 2,4-D (концентрация 0,04 и 0,15 мг/л соответственно) повышает частоту формирования эмбриоидов в 1,5-2,0 раза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.

Впервые показано, что дифференциация материнских гиноцийных линий по аллельному состоянию гена *F* при анализе гибридных комбинаций, полученных от скрещивания гиноцийной линии с моноцийной, позволяет выявить линии с высокой выраженностью женского пола для создания F1-гибридов огурца.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. В результате изучения влияния типа экспланта на эффективность технологии создания удвоенных гаплоидов на основе гиногенеза отмечено, что использование в качестве экспланта поперечных фрагментов завязи приводит к формированию эмбриоидов и морфогенных структур, тогда как использование в качестве экспланта изолированных семязачатков способствует гиногенному

развитию семязачатков, но не приводит к формированию морфогенных структур и дальнейшей регенерации в культуре изолированных семязачатков огурца. При этом установлено, что использование в качестве экспланта завязи, отобранной во время цветения, повышает частоту формирования эмбриоидов более, чем в 2 раза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца у образцов, отличающихся низкой эмбриогенной способностью

2. Установленный положительный эффект на частоту индукции гиногенеза варьированием компонентами индукционной питательной среды MS, в частности добавлением глюкозы (3 %), антиоксиданта глутатиона (10 мг/л), органического компонента гидролизата казеина (250 мг/л), регуляторов роста TDZ и 2,4-D (0,04 и 0,15 мг/л соответственно), отрицательный эффект при добавлении ингибитора этилена путресцина демонстрируют возможность существенного влияния отдельных компонентов питательной среды и их совокупности на индукцию эмбриогенеза, свидетельствует о необходимости изучения и поиска оптимального состава питательной среды для использования в рутинном производстве линий удвоенных гаплоидов огурца.

3. Выявленная миксоплоидность тканей, культивируемых *in vitro* растений-регенерантов огурца, с эквивалентным содержанием $2n$ и $4n$ клеток, может свидетельствовать об агрессивном воздействии компонентов среды на ткани огурца, приводящему к нарушению деления клеток и полиплоидизации.

4. Выявленные и продемонстрированные возможности надежной дифференциации гиноцийных линий по «силе» аллелей гена *F*, определяющего женский тип цветения, на основе гибридологического анализа при использовании в качестве тестера моноцийной линии, позволяет использовать данный инструмент в практической селекции. Линии, обладающие сильными аллелями гена *F* Руб6, S20-1(II)бн, Кибр2-6, Руб3, Мадр1-639 могут быть использованы в качестве материнского компонента в практических селекционных программах по созданию партенокарпических F1-гибридов огурца.

5. Из 7 новых перспективных гибридных комбинаций Рубб х Феникс1, (Пасхц)3х1)05 х РубМ, Сф1 х РубМ, Пас2-1111(18)18 х РубМ, Z1(II)6 х РубМ, В1(II)1 х РубМ, Бейок1-8 х Феникс1 рекомендованных для стационарного испытания в результате изучения комплекса хозяйственно-ценных признаков, будут отобраны кандидаты для передачи на Государственное сортоиспытание; вместе с этим выделены генотипы, гибридные комбинации Z1(II)бн2-1 х Феникс1, Бейок1-8 х Феникс1, Зел 1-64 х Феникс1 и Сф1 х Феникс1, сочетающие высокую продуктивность и высокую устойчивость к пероноспорозу, и представляющие ценный материал для создания инбредных линий.

6. Установлена реализуемость создания высокопродуктивных и высокоустойчивых к пероноспорозу F1-гибридов партенокарпического огурца вследствие отсутствия зависимости в проявлении эффектов ОКС линий огурца по признакам общая продуктивность и устойчивость к пероноспорозу ($r = 0,05$). При этом выделены две родительские линии Рубб и (Пасхц)3х1)05 лучшие по совокупности проявления признака женский тип цветения, высоких и средних эффектов ОКС по общей продуктивности, масса плодов, число плодов, имеющие наибольшие значения эффектов ОКС по баллу поражения пероноспорозом.

Методология и методы исследования

Теоретические исследования основаны на аналитическом обобщении опубликованных научных исследований. Экспериментальные исследования проведены с использованием стандартных и частных методик и последующей статистической обработкой данных. Полностью методология описана в главе «Материалы и методы».

Положения, выносимые на защиту

1. Добавление в индукционную питательную среду MS гидролизата казеина (250 мг/л), глутатиона (10 мг/л), регуляторов роста TDZ и 2,4-D (0,04 и 0,15 мг/л соответственно) достоверно повышает частоту формирования эмбриоидов в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.

2. Замена 3 % сахарозы в индукционной питательной среде MS на 3 % глюкозу и использование завязей, отобранных во время цветения в стадии полураскрытого цветка для изоляции экспланта, значительно повышает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей у образцов огурца с низкой эмбриогенной способностью.
3. Оценка проявления женского типа цветения потомств линий партенокарпического огурца при скрещивании с моноцидными линиями позволяет дифференцировать линии по аллельному состоянию гена *F* и выявить линии с аллелями, обеспечивающими высокую степень гиноцидности.
4. Создание высокопродуктивных и высокоустойчивых к пероноспорозу F1-гибридов партенокарпического огурца реализуемо вследствие отсутствия генетической зависимости в проявлении эффектов ОКС линий огурца по признакам общая продуктивность и устойчивость к пероноспорозу.

Степень достоверности и апробация результатов исследований

Достоверность исследований подтверждается обширными экспериментальными исследованиями, выбором необходимого количества повторностей и объема выборки при закладке опытов, а также статистической обработкой полученных экспериментальных данных.

Апробация результатов

Основные положения диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на: Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова (г. Москва, 2022); XXII Всероссийской международной конференции молодых учёных, посвящённой памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева (г. Москва, 2022); Международной научной конференции «Проблемы селекции – 2022» (г. Москва, 2022).

Публикация результатов исследований

По материалам диссертации опубликовано пять печатных работ, в том числе две в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад соискателя

Результаты экспериментальных исследований получены соискателем лично. Соискателю принадлежат разработка программы исследования и проведение экспериментов, теоретическое обобщение полученных результатов.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация изложена на 125 страницах и состоит из введения, 3 глав, включая обзор литературы, условия, материалы и методику проведения исследований, анализ результатов исследований, выводов, рекомендаций производству, списка использованной литературы, приложения. Библиографический список включает 142 наименования, в том числе 98 на иностранном языке. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 16 рисунками.

Благодарности

Автор выражает глубокую благодарность генеральному директору ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева», к.с.-х.н. Г.Ф. Монахосу и научному руководителю, заведующему кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых культур ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, профессору, д.с.-х.н. С.Г. Монахосу за методическую помощь и консультации при проведении научных исследований и подготовке диссертации.

1. Обзор литературы

1.1 Происхождение, распространение, значение

Огурец посевной (*Cucumis sativus* L.) – представитель Тыквенные (Cucurbitaceae Juss.), относящееся к роду *Cucumis*. Его происхождение связано с северо-западными регионами Индии, где распространены короткоплодные формы, и Китаем, где находят длинноплодные формы. Впервые дикорастущая форма огурца (Огурец Хардвика (*var. hardwickii*) были обнаружены у южных склонов Гималаев и в ряде северных территорий Индии. Культивирование огурца началось более 3000 лет назад.

В Европу огурец был привезен древними греками во время завоеваний юго-восточной Азии. Первые упоминания культуры в литературных источниках Европы датируются VIII в. В России огурец появился до IX века, однако первые печатные упоминания о нем относятся лишь к XVI в. В настоящее время огурец выращивается по всему миру как в открытом, так и в защищенном грунте (Налобова В. Л., 2022; Брызгалов В.А., 1995).

Согласно классификации С. Г. Габаева, вид *Cucumis sativus* L. подразделяется на 14 разновидностей. Огурец является однодомным однолетним растением со стелющимися ветвящимися стеблями и имеет раздельнополые цветки. Длина стебля может достигать 5 метров в зависимости от сорта и условий выращивания. Стебель округло-граненый, граненый или опушенный. Корневая система состоит из основного стержневого корня, достигающего глубины до 1 метра, и боковых корней, основная масса которых расположена в пахотном слое почвы (Налобова В. Л., 2022).

Листья огурца черешковые, очередные, трех- или пятилопастные, реже цельные, опушенные, размером от 8 до 20 см. Окраска варьируется от темно-зеленой до светло-зеленой с желтоватым оттенком. В пазухах 4-5-го листа образуются усики (Бунин М.С., 2011).

Огурец является перекрестноопыляемым растением, однако существуют партенокарпические сорта и гибриды, не требующие опыления. Цветки бывают

женскими, мужскими и обоеполыми, что приводит к образованию различных половых типов растений: моноцийные, гиноцийные, андромоноцийные, гермафродитные, гиномоцийные и тримonoцийные. Цветки расположены в пазухах, имеют пятичленную чашечку и длинные чашелистики. Лепестки – желтые, сросшиеся с чашечкой. Женские цветки располагаются на растении одиночно или попарно, мужские – по 3-5-7 штук в кистях. У мужских цветков имеется 5 тычинок, 4 из которых сросшиеся, а одна свободная. Завязь длинная, опушенная, трехгнездная, нижняя, растение энтомофильное, $n=7$ (Бунин М.С., 2011; Брызгалов В.А., 1995).

Цветение начинается с мужских цветков после появления 6-8-го листа. Цветки открываются в утренние часы. Мужские цветки остаются раскрытыми 1-2 дня, в то время как женские – 2-3 дня. Для опыления огурца возможны три способа: автогамия, гейтеногамия и ксеногамия. Сорты и гибриды делятся на пчелоопыляемые и партенокарпические (образуют плоды без оплодотворения) (Бунин М.С., 2011).

Плод огурца – ягода, форма которой варьируется от округлой до удлинённо-цилиндрической, массой от 40 до 300 г. Мякоть плодов от желто-белой до светло-зеленой, окраска плода – от светло- до темно-зеленой. Плоды имеют опушение и различаются по окраске шипиков, что в свою очередь важно для консервирования. Плоды употребляются в пищу в технической спелости. Биологическая зрелость плодов достигается через 40-60 дней, после чего плоды меняют окраску на молочно-белую или коричневую и становятся твердыми (Брызгалов В.А., 1995; Гиш Р. А., 2007).

Семена расположены в трех семенных камерах. Они среднекрупные, кремовой или белой окраски, длиной 5-16 мм в зависимости от сорта, эллиптической формы. Число семян в плоде варьируется от 100 до 600. В плодах партенокарпических сортов семян образуется мало. Масса 1000 семян составляет 25-30 г, а их всхожесть сохраняется до 6-8 лет (Бунин М.С., 2011).

Плоды огурца используются как в свежем, так и в переработанном виде. Огурец считается диетическим продуктом, так как содержит много воды (95-97

%), минеральные соли (калия, натрия, магния, железа, кальция, кремния, фтора) и ферменты, способствующие усвоению витаминов группы В и белков. В огурцах содержатся витамины С, В1, В2, а также фолиевая и пантотеновая кислоты. Горечь плодов обусловлена наличием кукурбитацина, который может накапливаться при высокой температуре и недостаточном поливе, а также при низкой положительной температуре в течение продолжительного времени (Налобова В. Л., 2022; Брызгалов В.А., 1995; Гиш Р. А., 2007).

1.2 Основные направления селекции огурца

В настоящее время в F1-гибриды, обеспечивающие гетерозис по хозяйственно-ценным признакам растений, играют ключевую роль в области селекции и семеноводства. Однако стоимость производства таких семян значительно выше, чем при выращивании сортового материала. Поэтому улучшение технологии создания F1-гибридов и получение гибридных семян с использованием методов и приемов, минимизирующих затраты труда и ресурсов, является необходимым условием для широкого использования гетерозисных гибридов в сельском хозяйстве. (Налобова В.Л., 2012). К преимуществам гетерозисных F1-гибридов относят высокую продуктивность и однородность, устойчивость к наиболее распространенным патогенам, возможность биологической защиты прав на интеллектуальную собственность селекционеров (Hyde P.T., 2012).

Явление гетерозиса у огурца впервые в России начал изучать А.Д. Якимович на Грибовской овощной станции. Согласно исследованиям Ткаченко Н.Н. (1967, 1968) F1-гибриды огурца превосходили родительские линии по продуктивности на более, чем 20 %.

Для Нечерноземной зоны наиболее актуальными являются следующие требования, предъявляемые к коммерческим F1-гибридам огурца, выращиваемым в защищенном грунте в весенне-летнем и летне-осеннем оборотах: высокая степень партенокарпии, высокая урожайность, скороспелость, букетный тип плодоношения, женский тип цветения,

ограниченное боковое ветвление, высокое качество плода, устойчивость к наиболее распространенным патогенам (в т.ч. ложной мучнистой росе). Потребители российского рынка отдадут предпочтение F1-гибридам с зеленцами небольшого размера с крупнобугорчатой поверхностью. Помимо этого, плоды должны обладать высокими вкусовыми качествами как в свежем, так и в переработанном виде, иметь привлекательный внешний вид и обладать генетически обусловленным отсутствием горечи в плодах (Коротцева И. Б.; Химич Г. А., 2015).

Е.А. Шуляк и В.Ф. Гороховский (2018) утверждают: «Наиболее актуальным вопросом в области селекции, семеноводства и агротехники огурца является создание новых сортов и гибридов, сочетающих в себе высокую урожайность плодов и семян, комплексную устойчивость к основным патогенам и высококачественный зеленец с отсутствием горечи и пустот, пригодный для употребления в свежем и консервированном виде».

Одним из перспективных направлений селекции по мнению ряда авторов является создание новых сортов и F1-гибридов огурца, устойчивых к загрязнению среды и не накапливающих больших количеств токсических веществ. Согласно наблюдениям Пыженкова В.И. (1994) огурец – очень чувствительная культура и может служить индикатором всевозможных отклонений в среде обитания. Растения огурца первыми погибают от кислотных дождей

В настоящее время как отечественными, так и зарубежными селекционерами создаются F1-гибриды огурца с букетным типом цветения. Особенно актуально данное направление для создания короткоплодных F1-гибридов огурца для отечественного рынка. Букетный тип плодоношения позволяет значительно повысить урожайность гибридов.

Многие исследователи одним из основных признаков и свойств считают урожайность, наряду с качеством плодов и устойчивостью растений к основным болезням. Урожайность – комплексный признак, включающий в себя взаимосвязанные признаки: масса плода, число плодов на растении, степень

выраженности женского пола, устойчивость к болезням и вредителям, число боковых побегов, скороспелость, степень партенокарпии. По данным признакам необходимо вести отбор с целью повышения эффективности селекционного процесса (Монахос Г.Ф. и др., 2013). Согласно исследованиям, наиболее эффективным методом оценки урожайности является общее число плодов с растения. Так, корреляция числа плодов с продуктивностью составляет 0,70-0,98 (Нгуен, 2014).

Под партенокарпией понимают завязывание плодов без опыления. Является экономически важным признаком, определяющим урожайность и качество плодов огурца. Партенокарпия контролируется рядом гормонов из группы ауксинов, которые зависят от условий окружающей среды (Ушанов А.А. и др., 2020). Исследования, проведенные за последние два десятилетия, указывают, что партенокарпия контролируется множественными QTL (локусы количественных признаков). При этом в зависимости от происхождения сортотипа QTL находятся на разных хромосомах (Gou C. et al., 2022). Степень партенокарпии оценивают путем определения числа плодов, сформированных на растении без опыления в условиях изоляции женских бутонов до 20-го узла включительно (Ушанов А.А. и др., 2020).

Огурец поражается многочисленными заболеваниями, среди которых основные настоящая мучнистая роса, ложная мучнистая роса, фузариоз, корневые гнили, аскохитоз, угловатая пятнистость листьев огурца, вирус огуречной мозаики (ВОМ-1), вирус зеленой крапчатой мозаики огурца (ВЗКМО), вирус желтых жилок огурца и др. В результате воздействия различных патогенов на растения огурца, потери урожая могут достигать 50 % и более. Одним из основных методов борьбы с заболеваниями является использование пестицидов. Однако данный метод приводит к существенным финансовым затратам. Таким образом, создание F1-гибридов огурца, обладающих комплексной устойчивостью к основным заболеваниям, является приоритетным направлением в селекции с целью повышения продуктивности и качества плодов (Юрина О.В., 1998; Хомченко Н.Н., 2018).

Для создания F1-гибридов огурца, устойчивых к основным заболеваниям необходимо изучить фитопатологическую ситуацию в регионе, где ведется селекция. Для определения материала, обладающего толерантностью и устойчивостью к патогенам, необходимо создавать инфекционный фон на изолированных участках теплиц или полей, в лабораторных условиях, а также разработать эффективные методики оценки и отбора устойчивых образцов. Когда отсутствуют устойчивые исходные формы, необходимо использовать межвидовую гибридизацию и селекцию на толерантность. Особое внимание следует уделять выведению сортов с групповым иммунитетом к нескольким заболеваниям, особенно тем, которые наиболее опасны для конкретной зоны или типа теплиц и культурооборота (Юрина О.В., 1998).

Изучение генетических и молекулярных механизмов устойчивости к заболеваниям является важным этапом при создании коммерческих F1-гибридов огурца. При селекции на устойчивость к болезням необходимо знать характер наследования признака. В зависимости от типа наследования селекцию ведут на неспецифический (горизонтальный) или специфический (вертикальный) тип устойчивости (Налобова, В.Л., 2012).

К настоящему времени не существует подтвержденных данных о генетическом контроле устойчивости к ряду заболеваний у огурца. Так, например, по разным источникам устойчивость к настоящей мучнистой росе и ложной мучнистой росе контролируется несколькими рецессивными генами (Liu X. et al., 2020; Chen Q. et al., 2021). Устойчивость огурца к оливковой пятнистости контролируется моногенно, доминантно (Налобова, В.Л., 2012).

Представляет значительный интерес активное внедрение биотехнологических и молекулярных методов в селекции огурца.

Среди биотехнологических методов наиболее перспективным для ускорения селекционного процесса является технология создания удвоенных гаплоидов (DH). Ряд исследователей посвящают свои работы разработке и оптимизации технологии создания удвоенных гаплоидов огурца. В основном авторы отдают предпочтение оптимизации отдельных этапов DH-технологий,

осуществленных при помощи гиногенеза и партеногенеза (Moqbeli E. et al., 2013; Li J. W. et al., 2013; Tantasawat P. A. et al., 2015; Golabadi M. et al., 2017; Домблидес Е.А. и др., 2019; Deng Y. et al., 2020). В настоящий момент уделяется внимание и разработке технологии создания удвоенных гаплоидов при помощи культуры изолированных микроспор несмотря на отрицательный результат при использовании андрогенеза у огурца (Song H. et al., 2007; Zhan et al., 2009; Asadi et al., 2018; Chen et al., 2018).

Помимо ДН-технологий авторы исследований уделяют внимание технологии спасения зародышей при отдаленной гибридизации у огурца. Отдаленная гибридизация проводится с целью передачи ценных признаков. Однако скрещивания *Cucumis sativus* L. с другими представителями семейства Тыквенные не всегда успешны из-за различий по числу хромосом и филогенетической отдаленности видов (Буренин В. И., 2018). Существует ряд исследований, сообщающих об успешном получении отдаленных гибридов от скрещиваний *Cucumis sativus* L. × *Cucumis anguria* L., *Cucumis hystrix* Chakr. × *Cucumis sativus* L. при помощи технологии спасения зародышей (Chen J. et al., 2003; Skálová D. et al., 2008).

Молекулярные маркеры широко используются для повышения эффективности селекционного процесса. Применение ДНК-маркеров позволяет ускорить селекцию огурца на устойчивость к различным заболеваниям. Так, например, молекулярные маркеры успешно применяют для создания F1-гибридов огурца, устойчивых к пероноспорозу, вирусу зеленой крапчатой мозаики огурца, настоящей мучнистой росе, вирусу желтых жилок огурца и другим заболеваниям (Пахратдинова Ж.У., 2017; Хомченко Н.Н., 2018; Дорогина Д.Д., 2021). Помимо этого, молекулярные маркеры используются для оценки гибридности семян (Байнозарова А. Н., 2007; Сахарова А. Н. и др., 2011).

1.3 Технологии создания удвоенных гаплоидов огурца

Гаплоидия – процесс, позволяющий получить растения с уменьшенным вдвое числом хромосом. У низших растений, таких как мохообразные и

лишайники в жизненном цикле преобладает гаплоидная стадия, а у высших растений - диплоидная стадия. Это естественное явление поставило вопрос о жизнеспособности высших растений, состоящих только из гаплоидных клеток (Watts A. et al., 2018). Ответ на этот вопрос был дан в начале 1920-х годов, когда Blakeslee с соавторами (1922) сообщили о спорофитных гаплоидных растениях *Datura stramonium* (дурман обыкновенный). Было отмечено, что гаплоидные растения дурмана обыкновенного были слабыми, стерильными и не давали семян (Watts A. et al., 2018). Позднее, в статье 1924 года Blakeslee впервые предположил, что гаплоидные растения можно использовать для ускоренного создания чистых гомозиготных линий. Кроме того, было установлено, что обработка алкалоидом колхицином, выделенным из *Colchicum autumnale*, может удвоить число хромосом растений, и, таким образом, гаплоиды могут быть преобразованы в удвоенные гаплоиды при воздействии колхицина (Blakeslee and Avery 1937). Эти открытия положили начало манипуляциям с гаплоидами и удвоенными гаплоидами (Watts A. et al., 2018). Впоследствии спонтанно формирующиеся гаплоидные растения очень редко наблюдались и у других видов. Palmer and Keller (2005) отметили, что ряд культур (табак, рис, кукуруза, капуста и ячмень) способны спонтанно формировать гаплоидные растения. В 1932 году была получена первая гомозиготная чистая линия томата при помощи ДН-технологий, получившая коммерческое название “Supreme Marglobe” (Morisson, 1932; Домблидес Е.А. и др., 2019). В 1970-х был выведен сорт рапса на основе линий, полученных из гаплоидов, получивший название Maris Harlona.

В настоящее время в мировой практике сельского хозяйства широкое распространение получили F1-гибриды. Гетерозисные гибриды превосходят сорта по скороспелости, дружности созревания, однородности товарной продукции и высокой урожайности. Учитывая, что устойчивость к болезням в большинстве случаев наследуется доминантно или полудоминантно, нет проблем при создании высокоустойчивых гибридов. Помимо этого, в условиях рыночной экономики защита авторских прав селекционеров приобретает

большое значение. Гибриды решают эту проблему более эффективно, чем сорта (Дютин, 2012; Шмыкова, 2015).

Создание гомозиготных родительских линий для селекции F1-гибридов огурца сопряжено со значительными финансовыми, трудовыми и временными затратами. Методы классической селекции позволяют получить чистые гомозиготные линии за 8–9 поколений инбридинга (Watts A. et al., 2018) (Dong Y.Q. et al., 2016; Shmykova N.A. et al., 2015; Gemes-Juhász A., 2002; Gałazka J. et al., 2013). ДН-технологии позволяют получить гомозиготные линии за 1-2 года. Технологии создания удвоенных гаплоидов повышают эффективность селекционного процесса, поскольку позволяют быстрее найти нужную комбинацию из-за возможность вести отбор не только доминантных, но и рецессивных признаков. Таким образом, генотипы, имеющие летальные гены в гетерозиготном состоянии сразу удаляются из селекционного процесса. Помимо этого, традиционные методы селекции не позволяют получать 100 %-ные гомозиготные чистые линии (Kurtar E.S., 2020). Технологии создания удвоенных гаплоидов для получения чистых линий особенно актуальны для сельскохозяйственных культур, обладающих самонесовместимостью (Watts A. et al., 2018).

Гаплоиды находят применение в фундаментальных генетических исследованиях, картировании локусов количественных признаков (QTL) и секвенировании генома у высокогетерозиготных видов многолетних сельскохозяйственных культур (Murovec and Bohanec 2011; Dong et al., 2016). Гаплоидные растения могут использоваться в качестве мишеней для индукции мутаций, трансформации, подходят для изучения ранних этапов эмбриогенеза и клеточного деления (Домблидес Е.А., 2019). Производство ДН-растений является важным этапом в недавно разработанной технологии обратной селекции (Reverse breeding), где полученные рекомбинантно-инбредные популяции могут быть подвергнуты скринингу с помощью молекулярных маркеров, чтобы идентифицировать популяции с комплементарными комбинациями хромосом и дать возможность восстановить первоначального

гетерозиготного родителя путем гибридизации двух ДН-индивидуумов (Dirks et al., 2009).

Преимущество гаплоидных технологий и созданных с их помощью растений также состоит в расширении формообразовательного процесса за счет гаметоклональной изменчивости (Шмыкова, 2015).

Гаплоидные растения играют важную роль в стабилизации числа хромосом у межвидовых гибридов, особенно в случаях высокой негомологичности хромосом. Они могут быть использованы для создания гибридов, способных выдерживать неблагоприятные условия окружающей среды, с вовлечением дикорастущих видов. Гаплоиды также могут передавать гены от полиплоидных видов диплоидным видам (Голованова, 2014).

Кроме того, гаплоиды служат моделями для изучения эффектов дозы гена, анализа наследования количественных признаков и исследования явления самонесовместимости. Эти исследования помогают понять особенности генетического материала и процессов наследования у растений (Лаптев, 1984; Атанасов, 1993).

Гаплоиды также широко применяются в генетической трансформации, что позволяет вносить изменения в геном растений с целью улучшения их свойств, таких как устойчивость к болезням, урожайность и другие характеристики. Использование гаплоидных растений в генетической трансформации открывает новые возможности для создания устойчивых и продуктивных сортов и F₁-гибридов растений (Dunwell, 2010).

Процесс формирования гаплоидов определяется генетическими особенностями, но его результаты в значительной степени зависят от физиологических условий и различных стимулирующих факторов. Это непосредственно влияет на процент выхода регенерантов. Согласно исследованиям (Baranski, 1996; Подвигина, 2003; Кильчевский, 2012), основными факторами, способствующими процессу, являются генотипические особенности исходных растений, стадия развития женского гаметофита и местоположение бутона на соцветии.

Особое значение имеют внешние факторы, влияющие на способность к регенерации культивируемых семязачатков. Сюда относятся такие аспекты, как сезон и продолжительность выращивания (возраст) растений-доноров, обработка бутонов и завязей холодом и рентгеновским излучением, температурные условия и обстановка при культивации изолированных семязачатков, а также процентное содержание ростовых регуляторов в питательных средах (Van Geyt et al., 1987; Lux et al., 1990; Gurel et al., 2000).

За счет модификаций протоколов ДН-технологий гаплоидные растения были получены у более чем 200 видов растений с использованием культуры пыльников, микроспор или семязачатков (Dunwell 2010).

Первые упоминания о получении гаплоидных растений Cucurbitaceae датируются 1950-ыми (Домблидес Е.А., 2019). Гаплоидные зародыши были получены путем скрещивания *C. maxima* x *C. moschata*. Гаплоидный набор хромосом полученных растений был подтвержден цитологическим анализом. Было отмечено, что растения имели меньший размер по сравнению с диплоидными гибридами, мужские цветки образовывались только в защищенном грунте, пыльники были пустыми. Женские цветки при опылении завязывали плоды, но семена не формировались (Hayase, 1954, Домблидес Е.А., 2019). Выход гаплоидов, полученных путем отдаленной гибридизации с последующей элиминацией хромосомного набора одного из родителей, как правило, крайне низок. Например, в исследовании Dumas de Vaultx (1979) гаплоидные растения дыни были получены путем скрещивания *Cucumis melo* L. и *Cucumis ficifolius* A. Rich. Причем выход гаплоидных зародышей составил до 3 гаплоидов на 1000 семян.

Первое гаплоидное растение огурца было получено при помощи технологии спасения зародышей в 1958 году. Автор исследования описал простой метод обнаружения гаплоидных растений: гаплоидные семена не тонут в воде в отличие от диплоидных. Полученные гаплоидные растения исследователь обрабатывал водным раствором колхицина. Однако после обработки растения образовывали мужские цветки с очень низкой частотой, что

исключало возможность получения потомства от самоопыления. Частота образования спонтанных гаплоидов крайне низка, менее 1 гаплоидного зародыша на 1000 семян (Aalders, 1958).

Низкая частота образования спонтанных гаплоидов крайне неэффективна для селекционного процесса. Таким образом, встала необходимость разработки технологий создания удвоенных гаплоидов с более высокой эффективностью.

На сегодняшний день известны 3 пути получения гаплоидных растений огурца:

- партеногенез - получение гаплоидных растений при помощи опыления облученной пылью;
- андрогенез - получение гаплоидных растений при помощи культуры пыльников или изолированных микроспор;
- гиногенез - получение гаплоидных растений при помощи культуры изолированных семязачатков или фрагментов завязей.

Каждая из технологий имеет свои преимущества и недостатки. К настоящему моменту большинство существующих протоколов технологий создания гаплоидов огурца обладают невысокой эффективностью.

1.3.1 Партеногенез

Индукция партеногенетического развития гаплоидного зародыша осуществляется за счет опыления женских цветков облученной пылью с последующим применением технологии спасения зародышей. Данная технология получения гаплоидных растений огурца была впервые успешно применена более 30 лет назад (Truong-Andre I., 1988). В последующие годы исследования были сосредоточены на влиянии на эффективность технологии генотипа, времени года, дозы облучения. В качестве источника облучения в основном используют γ -лучи для пыли. Чаще всего используют ^{60}Co , поскольку он легок в применении, обеспечивает высокий темп развития мутаций и низкую летальность (Kurtar and Balkaya, 2010). Однако существуют сообщения

об использовании рентгеновского облучения для индукции развития гаплоидных зародышей у огурца (Antos M. et al., 2001).

Предпочтительная доза облучения специфична для каждой культуры. Согласно исследованию Niemirowicz-Szczytt et al. (1995) оптимальная доза облучения для индукции гаплоидов огурца составила 300 Гр. Faris (1999) с соавторами применяли дозы облучения от 50 до 300 Гр и сделали вывод, что оптимальная доза достигает 100 Гр. Cuny et al. (1993) изучил дозы облучения, применяемые на дыне, в диапазоне от 150 до 2500 Гр и отметил, что данный фактор незначительно влияет на частоту получения гаплоидных зародышей.

В качестве материала для облучения используют мужские цветки с предварительным удалением чашелистиков и лепестков, либо изолированные пыльники (Kurtar et al., 2009, Sari et al., 1994). Упоминаний о способе опыления крайне мало. Однако известно, что увеличение количества пыльцевых зерен, попадающих на рыльце пестика стимулирует партеногенез за счет образования большого количества пыльцевых трубок, достигающих яйцеклетки (Sauton and Dumas de Vaultx 1987, Cuny et al. 1993).

Время года значительно влияет на выход гаплоидных растений огурца. Согласно большинству исследований, наибольшее количество гаплоидных зародышей огурца было получено летом, чем весной и осенью (Przyborowski and Niemirowicz-Szczytt 1994, Sztangret-Wisniewska et al. 2006, Çağlar and Abak, 1999a, 1999b).

1.3.2 Андрогенез

Андрогенез – это способность гаплоидных клеток мужского гаметофита преобразовываться в спорофит при воздействии индуцирующих факторов в культуре *in vitro*. При культивировании из гаплоидных клеток мужского гаметофита формируются эмбриоиды или морфогенный каллус с последующим образованием эмбриоидов.

Впервые возможность массового получения гаплоидов в культуре *in vitro* была отмечена в исследовании в 1949 году (Chase S.S., Troits B., 1949). Ряд

исследователей отмечают в своих работах, что в культуре пыльников получить гаплоидные растения не удалось (Eun, J.S., Vak H.B., 1974; Lazarte, Sasser, 1982; Dryanovska, 1985). Таким образом, предполагается, что огурец является культурой, плохо отзывчивой к андрогенезу.

К настоящему времени опубликовано значительное количество исследований, посвященных изучению андрогенеза у представителей семейства Cucurbitaceae и факторов, влияющих на данный процесс. Однако частота эмбриогенеза остается низкой и сильно зависит от генотипа. Лучший результат, которого удалось достичь в культуре пыльников, составил 3 эмбриоида на 1 пыльник и 0,93 гаплоидных растений на 1 пыльник (Song H. et al., 2007). Ряд протоколов по технологии создания удвоенных гаплоидов в культуре изолированных пыльников характеризуются высокой частотой образования гаплоидных растений (Asadi et al., 2018; Amirian et al., 2019). Однако данные протоколы отличаются высокой генотип-специфичностью.

При культивировании пыльников чаще всего образуется каллус, и прямой эмбриогенез встречается редко. Регенерацию эмбриоидов отмечали только из каллуса, при этом цвет и структура эмбриогенного каллуса могут значительно различаться (Song H. et al., 2007). Образование каллуса часто происходит из диплоидных низкодифференцированных клеток эндотеция и связника пыльника, что затрудняет отбор истинных гаплоидов. Согласно данным Asadi с соавторами (2018), правильное расположение пыльников на питательной среде помогает уменьшить вероятность образования каллуса из соматических тканей. В результате одним из существенных недостатков культуры пыльников является необходимость дифференцировки полученных диплоидных растений-регенерантов.

Одним из способов, позволяющим отделить растения-удвоенные гаплоиды от диплоидных, сформированных из соматических клеток пыльника, является анализ потомства от принудительного самоопыления. Однако данный способ отличается длительностью и высокими трудозатратами. Использование молекулярных маркеров является наиболее перспективным способом

определения истинных гаплоидов благодаря высокой скорости оценки полученных растений-регенерантов. Для определения гомо- и гетерозиготности растений-регенерантов используют кодоминантные молекулярные маркеры.

Культура изолированных микроспор является наиболее перспективным методом для получения удвоенных гаплоидов. Одним из преимуществ данного метода является исключение этапа идентификации клонов, полученных из соматических тканей, при помощи молекулярных маркеров. Однако на сегодняшний день количество исследований, посвященных данной теме, ограничено (Chen et al., 2008; Zhan et al., 2009; Chen et al., 2018). Chen с соавторами (2018) запатентовали метод получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор. В патенте описано успешное получение 40 растений, в том числе удвоенных гаплоидов и октоплоидов, гаплоидных растений не обнаружено. Также авторы утверждают, что технология не является генотип-специфичной. Другое исследование показало успешное получение 14 растений огурца сорта "Changchun Mici" с помощью культуры изолированных микроспор *in vitro*. Эффективность технологии составила до 21,7 эмбриоидов на чашку Петри (Zhan et al., 2009).

Важно определить оптимальную стадию экспланта для индукции андрогенеза огурца. Большинство авторов отмечает, что оптимальными являются бутоны огурца, содержащие микроспоры от средней до поздней одноядерной вакуолизированной стадии развития. Размер бутона подбирают индивидуально для каждого образца. Согласно патенту Chen с соавторами (2018) наиболее оптимальной стадией развития экспланта являются бутоны, содержащие поздние одноядерные микроспоры, что соответствует размеру бутонов от 0,3 до 0,6 см. Стимулом для перехода экспланта с гаметофитного пути развития на спорофитный являются стрессовые факторы. В качестве стрессового фактора, как правило, используют холодовую предварительную обработку бутонов или высокотемпературную обработку изолированных микроспор на начальной стадии культуры *in vitro* (Zhan et al., 2009).

Состав питательной среды – ключевой фактор, влияющий на успешную индукцию эмбриоидов. Большинство исследователей используют среду MS или NLN для культуры изолированных микроспор огурца (Lichter, 1982; Zhan et al., 2009). Оба состава среды показывают хорошие результаты по индукции эмбриоидов. Для культивирования пыльников, как правило, используют индукционную питательную среду MS с измененной концентрацией макро- и микроэлементов, а также питательную среду B5. Один из лучших результатов по частоте эмбриогенеза в культуре пыльников огурца был отмечен при использовании питательной среды Максимальное количество эмбриоидов (1,26 и 1,23 эмбриоида на пыльник) было получено при использовании питательной среды MS с полной и половинной концентрацией макро- и микроэлементов (Abdollahi et al., 2016).

Регуляторы роста, присутствующие в питательной среде, оказывают значительное влияние на индукцию андрогенеза. Согласно исследованиям, в составе индукционных питательных сред наиболее часто используют регуляторы роста в 6-BAР, 2,4-D, кинетин в различных концентрациях. Для регенерации эмбриоидов, как правило, используют сочетание регуляторов роста из группы ауксинов и цитокининов в различных концентрациях: 6-BAР, NAA и кинетин. (Kumar et al. al., 2003, Kumar, Murthy, 2004, Song et al., 2007, Abdollahi et al., 2016, Asadi et al., 2018).

К настоящему времени число исследований по влиянию компонентов питательной среды на частоту индукции эмбриогенеза в культуре пыльников огурца и других представителей семейства Cucurbitaceae невелико. Так, Ashok Kumar с соавторами (2004) изучали влияние сахаров (сахароза, мальтоза, глюкоза и фруктоза), аминокислот (глутамин, глицин, аргинин, аспаргин и цистеин) и полиаминов (спермидин, путресцин) на частоту эмбриогенеза в культуре пыльников огурца. Согласно итогам исследования, наиболее высокую частоту эмбриогенеза наблюдали при добавлении 85 г/л сахарозы и 29 мг/л спермидина. При этом авторы отметили отдельные случаи прямого эмбриогенеза.

Несмотря на ряд исследований, проведенных за последние 10 лет, технологии создания удвоенных гаплоидов огурца путем андрогенеза имеют ряд ограничений. К ним относятся низкая отзывчивость культуры огурца к андрогенезу, низкая частота эмбриогенеза, генотип-специфичность, а также низкий процент мужских цветков у современных сортов и F1-гибридов огурца. Однако согласно данным Amirian с соавторами (2019), обработка донорных растений огурца раствором нитрата серебра и гиббереллиновой кислотой (ГК) не снижала частоту эмбриогенеза в культуре пыльников. При этом при обработке растений-доноров ГК частота эмбриогенеза повышалась по сравнению с материалом, отобранному с растений, обработанных нитратом серебра.

1.3.3 Гиногенез

Гиногенез – процесс, при котором гаплоидные клетки зародышевого мешка переходят с гаметофитного пути развития на спорофитный с образованием эмбриоидов (прямой эмбриогенез) или морфогенного каллуса (непрямой эмбриогенез). Для создания удвоенных гаплоидов путем гиногенеза в качестве экспланта используют неопыленные семязачатки, целые завязи или их фрагменты. Гиногенез у огурца наиболее перспективен благодаря относительной простоте технологии. Несмотря на то, что частота эмбриогенеза является наиболее высокой при использовании партеногенеза, гиногенез не требует дорогостоящего оборудования.

Chambonnet Dumas de Vault в 1985 году впервые получил гаплоидные растения кабачка в культуре изолированных семязачатков. Последующие исследования показали эффективность использования данной технологии у других представителей семейства Cucurbitaceae. Первый эффективный протокол по созданию удвоенных гаплоидов огурца при помощи гиногенеза был опубликован в виде патента в 1996 году компанией Nuhmes Zaden BV (US Patent 5492827). В следующие 20 лет было проведено значительное число исследований, посвященных гиногенезу огурца (Gemes-Juhasz et al., 1997, Diao et al., 2009, Moqbeli E. et al., 2013, Li J. W. et al., 2013, Tantasawat P. A. et al., 2015,

Golabadi M. et al., 2017, Домблідес Е.А. и др., 2019, Deng Y. et al., 2020). На процесс гиногенеза влияет ряд факторов, требующих изучения: генотип растения, условия выращивания донорных растений, стадия развития женского гаметофита, тип экспланта состав питательной среды, температурные предобработки.

Ключевой особенностью гиногенеза является необходимость идентификации гомо- и гетерозигот среди полученных растений-регенерантов, чтобы отличить истинные удвоенные гаплоиды от клонов растений-доноров, полученных из соматических тканей зародышевого мешка. Наиболее простым способом является анализ потомства по выравненности, полученного от самоопыления растений, сформированных в культуре изолированных семязачатков. Более эффективным является использование кодоминантных молекулярных маркеров. В основном исследователи используют SSR маркеры (Diao, W. P. et al., 2009, Deng Y. C. et al., 2020).

При оценке эффективности протоколов по созданию удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза идентификация видимых структур, сформированных из семязачатков, затруднительна. Однако в 2020 году Deng Y. C. соавторами провели микроскопический анализ культивируемых эксплантов и выяснили, что семязачатки, ярко-зеленого цвета, увеличенные в несколько раз, выступающие на поверхности фрагментов завязей, являются эмбриоидами разной стадии развития от глобулярной до торпедо и семядольной стадии.

В результате гиногенеза формируются гаплоидные и удвоенные гаплоидные растения-регенеранты. Частота спонтанного удвоения у огурца в культуре семязачатков сильно варьируется. Так, по данным Diao W. P. et al. (2009) из 44 полученных растений-регенерантов 2 оказались гаплоидами, 5 – тетраплоидами, 33 – диплоидами. Согласно исследованиям Li J. W. 80 % полученных растений-регенерантов в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца составили гаплоиды. Пloidность растений-регенерантов определяют, как правило, прямым подсчетом хромосом в клетках кончика корня или усов, а также при помощи проточной цитометрии (Diao W. P.

et al., 2009, Li J. W. Et al, 2013, Moqbeli et al. 2013, Deng Y. C., 2020). Альтернативным способом является цитологический анализ растений-регенерантов. Существует корреляция между уровнем пloidности и числом хлоропластов в замыкающих клетках устьиц, размером замыкающих клеток устьиц.

Идентифицированные гаплоидные растения подвергают обработке антимиотическими агентами для удвоения набора хромосом. Эффективность протокола зависит от условий обработки (условия *in vitro*, *in vivo*), типа антимиотического агента, его концентрации и продолжительности экспозиции. Согласно данным Claveria с соавторами (2009) обработка гаплоидных растений огурца колхицином в концентрации 500 мг/л в течение 48 ч привела к формированию 30 % диплоидов, 55 % миксоплоидов, 14 % гаплоидов. При этом выживаемость растений после обработки составила 20-60 %. Çağlar и Abak (1997) в своем исследовании отмечают, что наиболее эффективным оказалось 3-5-кратная обработка колхицином апикальных меристем растений огурца 0,5 %-ным раствором колхицина.

Альтернативный метод удвоения гаплоидного набора хромосом у огурца основан на регенерации диплоидных растений из гаплоидных листовых эксплантов (Faris et al., 2000).

1.4 Факторы, влияющие на эффективность технологии создания удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза

1.3.1 Генотип донорных растений

Генотип считается наиболее важным фактором для успешной индукции гаплоидов при гиногенезе. Так, например, по данным Домблides Е. А. с соавторами (2019) все образцы огурца оказались отзывчивыми в культуре изолированных семязачатков *in vitro*. Однако получить растения-регенеранты удалось только у 6 образцов из 8. Согласно исследованию Deng Y. C. соавторами (2020), было отмечено, что отзывчивость разных генотипов варьировалась от 67,3 до 0 %. Ряд авторов утверждает, что отзывчивыми оказались все из изучаемых образцов в исследованиях вне зависимости от условий

культивирования. Однако регенерацию отмечали только у части генотипов (Diao et al., 2009, Moqbeli E. et al., 2013, Tantasawat P. A. et al. 2015).

О взаимодействии генов при гиногенезе известно мало. Jakše M. с соавторами (2003), исследуя гибриды между низко- и высокоурожайными генотипами лука, выявил полигенное наследование регенерации при гиногенезе с доминированием низкой продуктивности. Следует отметить, что для селекционных целей генотипы с высоким потенциалом гиногенеза можно использовать в качестве “индукторов” для скрещивания с селекционным материалом с низкой отзывчивостью на гиногенез, даже несмотря на необходимость проведения обратного скрещивания, которое в свою очередь замедляет селекционный процесс (Bohanec B., 2009).

Еще меньше известно о механизмах молекулярной генетики, которые запускают гиногенное развитие. При молекулярно-генетических исследованиях апомиксиса (в некоторой степени аналогичного гиногенезу процесса развития эмбриоида) сначала предполагался простой характер наследования, но в дальнейших работах было выявлено комплексное наследование этого процесса. Вероятно, для выявления генов-кандидатов, отвечающих за механизмы, ведущие к развитию гаплоидных эмбриоидов, требуется проведение более масштабных исследований. Несмотря на отсутствие молекулярных и базовых генетических знаний, полученные через гиногенез гаплоиды уже используются для других целей, таких как генетические исследования наследования или стабилизации признаков после межвидовой гибридизации (Bohanec B., 2009).

1.3.2 Условия выращивания донорных растений

Создание оптимальных условий для выращивания донорных растений является ключевым шагом в получении гаплоидов. На успешность процесса формирования гаплоидов в культуре изолированных семязачатков влияют различные факторы, такие как освещение, температурные режимы, влажность, подкормки и отсутствие насекомых-вредителей. Важно, чтобы донорные

растения были здоровыми и сильными, чтобы обеспечить высокое качество эксплантированного материала.

Многие исследователи рекомендуют выращивать донорные растения в контролируемых условиях, таких как теплицы или климатические камеры, чтобы уменьшить негативное воздействие внешней среды и предотвратить заболевания и вредителей. Это подход обеспечивает преимущество перед выращиванием в полевых условиях. Кроме того, для получения последовательных результатов важно минимизировать воздействие окружающей среды на донорные растения, поэтому использование климатических камер является необходимым (Кильчевский, 2012).

Исследования показывают, что выращивание донорных растений в условиях защищенного грунта и климатических камер приводит к значительному увеличению выхода гаплопродукции по сравнению с выращиванием в открытом грунте. Это подтверждается работами ученых (Lux et al., 1990; Baranski, 1996; Gurel, 2000; Wremerth, Levall, 2003), которые подчеркивают важность контролируемых условий для эффективного процесса получения гаплоидов.

1.3.3 Стадия развития экспланта

Стадия развития семязачатка для начала культивирования часто четко не определена. В основном авторы предпочитают выбирать стадию культивирования опираясь на стадию развития бутона цветка или стадию развития пыльцы. Однако у некоторых культур мужские и женские гаметофиты созревают неодновременно, поэтому по стадии развития пыльцы прямое сравнение проблематично. Микроскопический анализ зародышевых мешков требует квалифицированного эмбриолога для интерпретации результатов. Поэтому исследователи, как правило ориентируются на внешние признаки бутона или завязи такие, как размер, окраска завязи или бутона (Bohanec V., 2009).

Индукция гиногенеза возможна на разных стадиях развития семязачатка, но наиболее результативной является поздняя стадия. По данным Шмыковой Н.

А. (2009) для индукции гиногенеза огурца оптимальным периодом является полураскрывшийся бутон или цветок в утренние часы. Эти данные подтверждает Домблидес Е.А. с соавторами (2020) в своем исследовании. Li J. с соавторами (2013) провел микроскопический анализ зародышевого мешка огурца в стадии за 3, 2, 1 суток и за 12 ч до раскрытия цветка. Исследователь отметил, что за 3 суток до начала цветения женский гаметофит находился в стадии одноядерного зародышевого мешка. Восьмиядерный зародышевый мешок был отмечен в стадии открытого цветка. Наибольшее число эмбриоидов также было получено из эксплантов в стадии открытого цветка. Таким образом, автор предполагает, что наиболее оптимальной стадией развития экспланта, подходящей для инокулирования на искусственную питательную среду, является завязь с открытым венчиком. Deng Y. с соавторами (2020) также провел микроскопический анализ зародышевого мешка, а также развивающихся эмбриоидов огурца в культуре фрагментов завязи. Исследователь выяснил, что наиболее оптимальной стадией развития экспланта является восьмиядерный зародышевый мешок, что соответствует завязи за 6 ч до открытия цветка. Однако большая часть исследователей отбирает завязи за 1 сутки до раскрытия цветка (Tantasawat P. A. et al., 2015, Ozsan T. et al., 2017, Golabadi M. et al., 2017, Sorntip, A. et al., 2017, Vaktemur G. et al., 2022, Nyirahabimana F., Solmaz İ., 2024).

При создании технологии получения удвоенных гаплоидов огурца применяются различные методы введения в культуру *in vitro*. В одном из подходов молодая завязь огурца после стерилизации разрезается продольно или поперечно на фрагменты, которые затем помещаются на индукционную питательную среду. После трех-четырёх недель культивирования развившиеся семечки или образовавшийся из них каллус с эмбриоидами извлекаются и пересаживаются на свежую среду для последующей регенерации растений. В другом подходе семечки сразу выделяют из молодой завязи огурца и помещают на индукционную питательную среду для дальнейшего развития. В обоих случаях осуществляется контрольный процесс культивирования и

регенерации удвоенных гаплоидов, что позволяет получить желаемые растения с удвоенным набором хромосом.

1.3.4 Температурная предобработка

Стресс является наиболее распространенным стимулирующим фактором, влияющим на частоту эмбриогенеза, при этом наиболее часто в качестве предварительной обработки используется воздействие высокими или низкими положительными температурами. В некоторых исследованиях сообщается, что стресс обработки играют решающую роль в гиногенной эмбриональной индукции (Bohanec B., 2009). Gémes-Juhász с соавторами (2002) изучал разные варианты обработки эксплантов положительными температурами: 24, 28, 35 °С в течение 2-10 суток. Было установлено, что обработка эксплантов при температуре 35 °С оказалась наиболее эффективной. Большинство авторов исследований культивируют экспланты сразу после инокулирования на питательную среду при температуре 35 °С в течение 3-4 суток в темноте (Diao et al., 2009, Golabadi M. et al. 2017, Nyirahabimana F., Solmaz Í., 2024,. По данным Домблидес Е. А. (2019) для индукции эмбриогенеза у огурца эффективно применять температурную обработку в течение 7-10 дней при 32 °С в темноте и лишь затем переносить на свет и 25°С. Исследователи не изучали влияние низких положительных температур на эмбриогенез огурца в культуре изолированных семязачатков и фрагментов завязей. Deng Y. с соавторами (2020) предлагает использовать сочетание температурных обработок: обработка низкими положительными температурами (4 °С) завязей огурца до инокулирования на питательную среду в течение 4 суток и обработка высокими положительными температурами (33 °С) после инокулирования на питательную среду в течение 2 суток.

1.3.4 Условия культивирования

Большинство авторов, исследующих технологию создания удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза, культивируют экспланты при условиях: температура 25±1 °С, фотопериод 16/8 (16 ч света, 8 ч темнота) (Diao et al., 2009, Moqbeli E. et al., 2013, Li J. W. et al., 2013, Golabadi M. et al., 2017). В качестве

источника света, как правило, используют флуоресцентные лампы с холодным белым светом (Diao et al., 2009, Moqbeli E. et al., 2013, Golabadi M. et al., 2017). Однако некоторые исследователи прибегают к модификации условий культивирования. Так, например, Вактемур Г. с соавторами (2022) после температурной обработки эксплантов (35 °С в течение 2 суток в темноте) культивирует фрагменты завязей при температуре 25±1 °С в течение 5 суток в темноте. Далее экспланты культивируют при стандартных условиях: температура 25±1 °С, фотопериод 16/8.

1.3.5 Состав питательной среды

Питательная среда – основной фактор, влияющий на индукцию гиногенеза. Питательную среду можно рассматривать как фактор стресса. Как правило, для технологии создания удвоенных гаплоидов огурца путем гиногенеза используют 2 питательные среды – индукционную и регенерационную. В основном для гиногенеза используют питательные среды, обычно применяемые для микроклонального размножения. Для гиногенеза тыквенных, в т.ч. огурца, была разработана питательная индукционная среда СВМ (Gemes Juhasz et al., 2002). Помимо этого, для культивирования изолированных семязачатков и поперечных фрагментов завязей используют питательные среды MS (Murashige T., Skoog F., 1962) и МСм (Masuda et al., 1981). В лаборатории ФГБНУ ФНЦО была разработана питательная индукционная среда ИМС (Induction Medium for Cucurbitaceae) для культивирования изолированных семязачатков огурца (Domblides et al., 2019).

Как и при микроклональном размножении, состав и концентрация регуляторов роста, используемых для гиногенеза, сильно варьируется у разных видов растений. Наиболее часто используются ауксины и цитокинины. Сообщалось о новых полиаминах используемых при культивировании лука в качестве возможной замены ауксинов и цитокининов (Martinez et al. 2000). Высокие концентрации регуляторов роста стимулируют образование каллуса из соматических тканей и подавляют развитие эмбриоидов из гаплоидных клеток зародышевого мешка. В основном исследователи изучали влияние тидиазурона

(TDZ) в различных концентрациях на индукцию гиногенеза тыквенных. Результаты исследований, проведенных Suprunova и Shmykova (2008), об уровне влияния различных концентраций TDZ на развитие гаплоидов огурца подчеркивают важность индивидуального подбора оптимальной концентрации цитокинина для каждого генотипа. Они обнаружили, что для двух образцов огурца наилучшая концентрация TDZ составляла 0,2 мг/л, в то время как для третьего сорта оптимальной была доза 0,1 мг/л. Отмечено также, что без добавления хелата железа в индукционную среду CBM ((FeSO₄ x 7H₂O, Na₂EDTA) семязачатки не развивались при любых концентрациях TDZ. Исследования Li и др. (2013) подтвердили важность индивидуального подхода к выбору концентрации TDZ для каждого генотипа.

Исследования Diao и др. (2009) показали, что для всех генотипов огурцов оптимальной концентрацией TDZ была 0,04 мг/л. Работы Ozsan T. с коллегами (2013) и Moqbeli E. И др. (2017) показали, что наиболее высокая частота эмбриогенеза при гиногенеза у огурца достигается при концентрациях 0,03 мг/л и 0,04 мг/л тидиазурона.

Некоторые авторы исследований отмечают увеличение частоты эмбриогенеза при совместном действии регуляторов роста из группы ауксинов и цитокининов. Так, Tantasawat P. A. с соавторами (2015) отметили высокую частоту эмбриогенеза при культивировании эксплантов на питательной среде, содержащей 1 мг/л TDZ и 1 мг/л 6-BAР. Golabadi M. с соавторами (2017) показал, что добавление 1,5 мг/л 2,4-D и 1 мг/л кинетина в питательную среду повышает частоту эмбриогенеза у огурца. Изменение соотношения концентраций 2,4-D и кинетина (1,5 мг/л и 0,15 мг/л соответственно) также повышает частоту эмбриогенеза (Baktemur G. et al., 2022).

Сахар – один из ключевых факторов, влияющих на образование каллуса в культуре *in vitro*. В качестве источников сахаров исследователи, как правило, используют сахарозу в концентрации от 30 до 40 г/л (Gemes-Juhász et al., 2002, Suprunova and Shmykova, 2008, Diao et al. 2009, Li et al. 2013, Moqbeli et al. 2013). Shalaby с соавторами (2007) отметил, что концентрация сахарозы выше 60 г/л

приводит к резкому снижению частоты формирования эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков у кабачка. Согласно исследованию Kwack S.N., Fujieda K. (1988) наиболее оптимальной концентрацией сахарозы, приводящей к формированию эмбриоидов в культуре изолированных семязачатков тыквы мускатной, является концентрация 30 г/л. Более низкие или высокие концентрации сахарозы приводили к отсутствию эмбриогенеза.

В качестве дополнительных компонентов исследователи используют нитрат серебра $AgNO_3$ в различных концентрациях, который значительно повышал выход эмбриоидов. Нитрат серебра способствует снижению синтеза этилена. Согласно Diao et al. (2009) выявила, что нитрат серебра в концентрации 10 мг/л способствует ускоренному образованию и развитию эмбриодов. Исследования Li et al. (2013) показали, что оптимальные концентрации нитрата серебра для различных генотипов составляют 5 мг/л и 10 мг/л, причем другие концентрации не оказывают значительного влияния на индукцию и развитие эмбриоидов.

Одной из групп компонентов, используемых в питательных средах, являются органические добавки. Согласно исследованиям Добавление кокосового молока, бананового экстракта и томатного экстракта приводило к уменьшению количества образующихся эмбриодов. Кроме того, добавление триаконтанола (TRIA) в концентрации 0,02 мг/л и трииодобензойной кислоты (TIBA) в концентрации 1 мг/л в индукционную среду также не оказывало положительного воздействия, а, наоборот, снижало образование эмбриодов и каллуса. Концентрация также зависела от конкретного генотипа. Кроме того, по данным Sorntip A. (2017) добавление поливинил-пирролидона (PVP) позволяет каллусу дольше оставаться зеленым, так как PVP удаляет фенольные соединения. Таким образом, каллус не требует частых пересадок. Про гидролизат

После успешной индукции гиногенеза и образования эмбриодов или каллуса из неопыленных семяпочек, важным этапом является перенос этих структур на регенерационные питательные среды. Этот процесс во многом

аналогичен подобным этапам при андрогенезе и партеногенезе. Регенерационная среда CBM (Gémes Juhász et al., 2002; Suprunova и Shmykova, 2008; Moqbeli et al., 2013) или среда MS (Gémes Juhász et al., 1997; Suprunova и Shmykova, 2008; Diao et al., 2009; Tantasawat et al., 2015; Sorntip et al., 2017) часто используются для регенерации.

При прямом эмбриогенезе и формировании хорошо развитого эмбриоида можно обойтись без гормональных добавок (Gémes Juhász et al., 1997; Li et al., 2013). Однако у огурцов это происходит не так часто, поэтому чаще всего необходимо использовать регуляторы роста, такие как ауксины и цитокинины в различных концентрациях. Например, Gémes Juhász et al. (2002) и Suprunova и Shmykova (2008) добавляли 0,05 мг/л НУК и 0,2 мг/л БАП в свои среды. Moqbeli et al. (2013) использовали 0,05 мг/л НУК и 1,5 мг/л БАП. Suprunova и Shmykova (2008) также применяли 0,04 мг/л НУК и 0,2 мг/л БАП, в то время как Diao et al. (2009) использовали только БАП в концентрации 0,3 мг/л и 1,5 мг/л.

1.5 Селекция огурца на устойчивость к пероноспорозу

1.5.1 Распространение, биологические особенности развития ложной мучнистой росы

Создание коммерческих F1-гибридов огурца, устойчивых к заболеваниям, считается наиболее экономичным и результативным способом сокращения серьезного ущерба, который наносят патогены. За счет устойчивости к заболеваниям обеспечивается повышение продуктивности и высокое качество плодов. В открытом грунте огурцы подвергаются множеству заболеваний, включая оливковую пятнистость, бактериоз, корневую гниль, антракноз, настоящую и ложную мучнистую росу. Однако наиболее вредоносной и экономически значимым заболеванием считается ложная мучнистая роса. Большинство сортов и гибридов огурца, используемых в сельском хозяйстве, обладают недостаточной устойчивостью к этому заболеванию, что делает его особенно опасным во многих климатических зонах. Одной из значимых проблем

является поиск источников устойчивости к ложной мучнистой росе для создания высокоустойчивых коммерческих F1-гибридов (Гринько Н.Н., 2003).

К 2024 году в государственном реестре селекционных достижений количество сортов и F1-гибридов, устойчивых к пероноспорозу, незначительно. В основном это пчелоопыляемые F1-гибриды и сорта (F1 Дублер, F1 Спринт, F1 Журавленок, F1 Стриж, F1 Амурчонок и др.). Большая часть партенокарпических F1-гибридов не устойчива или слабоустойчива к ложной мучнистой росе. Таким образом, возникает необходимость в создании F1-гибридов с высокой степенью устойчивости к ложной мучнистой росе (Гринько Н.Н., 2003; Налобова В.Л., 2005; Алексеева К.Л. и др., 2005).

Возбудитель ложной мучнистой росы – гриб *Pseudoperonospora cubensis* (Berk et Curt) Rostow. Впервые был обнаружен в 1868 году в Южной Америке и на Кубе. В 1889 году было отмечено распространение заболевания на растениях огурца в США. С XX века пероноспороз встречается в странах Европы, Африке, России и др. В России пероноспороз был впервые обнаружен в 1903 году (Гринько Н.Н., 2003).

Возбудитель ложной мучнистой росы является облигатным паразитом, поражающим все растения семейства Тыквенные. Первичное заражение растений огурца производится за счет зооспорангиев, которые формируются в пораженных тканях листа. Вместе с растительными остатками они попадают в грунт и могут сохраняться там до 6 лет. При температуре 15-20 °С зооспоры способны поражать растения огурца. За счет капельной влаги зооспоры переносятся из открытого грунта в теплицы. Мицелий гриба так же хорошо сохраняется на поверхности семян и может служить первичным источником инфекции (Гринько Н.Н., 2003; Налобова В.Л., 2005; Алексеева К.Л. и др., 2005).

Вторичное заражение обеспечивается за счет быстрого прорастания зооспорангиев и инфицирования ткани в 15-17 точках. Благодаря этому свойству развитие и распространение патогена достигает высокой скорости (Гринько Н.Н., 2003).

Первичные симптомы заболевания характеризуются темными угловатыми пятнами с мокнущей поверхностью, видной с нижней стороны листа огурца, особенно в утренние часы, в условиях высокой влажности воздуха (Коротцева И. Б., 2020). В дальнейшем пятна изменяют окраску на светло-желтую, их количество увеличивается. Позднее на месте пятен наблюдается некроз тканей, лист буреет и отмирает. С нижней стороны листа образуется сероватый налет спороношения гриба. Зооспорангиеносцы выходят из устьиц, на их ветвях образуются зооспорангии овальной формы, с серой окраской. Спороношение лучше всего видно в условиях высокой влажности воздуха. При наличии капельной влаги сформированные зооспоры проникают через устьица в паренхиму листа. Инкубационный период заболевания составляет 3 дня при температуре 18 °С, 100 %-ной влажности (Гринько Н.Н., 2003; Алексеева К.Л. и др., 2005; Гринько Н.И., 2012).

Высокая относительная влажность воздуха способствует спороношению гриба даже на устойчивых образцах огурца. Низкая влажность замедляет цикл развития патогена, в результате чего развитие болезни ограничивается образованием пятен некроза. Благодаря нескольким циклам генерации патоген быстро распространяется (Гринько Н.Н., 2003; Алексеева К.Л. и др., 2005).

Высокая относительная влажность воздуха, резкие перепады дневной и ночной температур, приводящие к обильной росе, способствуют активному развитию и распространению болезни. Капельно-жидкая влага является главным ограничивающим фактором развития патогена. Низкие дневные температуры (17-20 °С), длинный день также способствуют развитию патогена (Гринько Н.Н., 2003; Коротцева И. Б., 2020).

В результате заражения патогеном наблюдается быстрое и массовое отмирание листьев огурца, что приводит к резкому снижению урожайности. Завязи желтеют и опадают. Сформированные плоды становятся мелкими и горькими. Снижение продуктивности достигает 40 %, в отдельных случаях – 80-100 % (Гринько Н.Н., 2003; Алексеева К.Л. и др., 2005).

Ложная мучнистая роса наиболее опасна на юге России, так как теплый климат в сочетании с высоким уровнем осадков наиболее благоприятен для развития патогена. Первые симптомы поражения патогеном в южных регионах наблюдают в мае-июне в период активного роста растений огурца в открытом и защищенном грунте. В этой фазе развития растения наиболее уязвимы. В северных регионах первые симптомы отмечают с 3-ей декады июля. В последние годы заболевание приняло характер эпифитотий, что значительно снизило валового сбора огурцов. Кроме того, с 1986 года было зафиксировано возникновение новых рас в южных регионах России, что привело к повышению вредоносности болезни и необходимости создания высокоустойчивых F1-гибридов огурца (Гринько Н.Н., 2003; Медведев А.В., 2014).

Для ведения селекции на устойчивость к заболеваниям необходимо выявить расовый состав патогена. В ряде стран были обнаружены различные физиологические расы *P. cubensis*. При этом вирулентность популяций патогена постоянно растет. Новые расы способны преодолевать устойчивость ряда сортов и гибридов. Так, например, устойчивые сорта огурца Дальневосточный, Декан, Конкурент, Миг на сегодняшний момент поражаются ложной мучнистой росой, причем степень поражения достигает 100 %. Согласно многочисленным данным, вирулентность популяций патогена сильно различается в зависимости от региона. Так, например, устойчивые к ложной мучнистой росе сорта, созданные в США, могут поражаться при выращивании в других регионах. Кроме этого, возникающие физиологические расы часто устойчивы к ряду фунгицидов, вследствие чего химические методы борьбы с патогеном теряют свою актуальность. Таким образом, создание сортов и гибридов огурца, устойчивых к ложной мучнистой росе, является одним из приоритетных направлений в селекции (Гринько Н.Н., 2003; Налобова В.Л., 2005; Медведев А.В., 2014).

Оценка и отбор на устойчивость к пероноспорозу осуществляется не только по баллам поражения заболеванием, но и по скорости отрастания боковых побегов, интенсивности спороношения, динамике развития вредоносности патогена. Согласно исследованиям, максимальное количество зооспорангиев с

двух сторон листа формируется у одного из восприимчивых гибридов F1 Апрельский, минимальное – у устойчивых сортов Феникс1, Дальневосточный 6, Тополек. Один из механизмов устойчивости к ложной мучнистой росе заключается в реакции сверхчувствительности, при которой наблюдается некроз клеток. Облигатный возбудитель не выживает в мертвых клетках, что приводит к снижению темпов распространения заболевания (Гринько Н.Н., 2003; Налобова В.Л., 2005).

1.5.2 Генетический контроль устойчивости к пероноспорозу

Данные о природе наследования устойчивости к ложной мучнистой росе противоречивы, что может объясняться различным происхождением исследуемых устойчивых образцов (Zhuo D. et al., 2024).

Большая часть исследователей сходится во мнении, что устойчивость к пероноспорозу контролируется несколькими рецессивными генами *dm*. Первые устойчивые формы были получены из китайских и индийских образцов. Один из первых устойчивых образцов из Индии PI 197087, обнаруженный в 1954 году, обладал геном устойчивости *dm-1*, расположенном на хромосоме 5 (Liu X. et al., 2020; Zhuo D. et al., 2024). В 2004 году устойчивость к заболеванию, обусловленная данным геном была преодолена в результате возникновения новых физиологических рас возбудителя. Дальнейшие исследования выявили полигенную природу наследования устойчивости огурца к пероноспорозу. В результате были обнаружены локусы количественных признаков, ассоциированные с устойчивостью к ложной мучнистой росе: *dm2.1*, *dm4.1*, *dm5.1*, *dm6.1* (Wang et al. 2016), *dm2.2*, *dm4.1*, *dm5.1*, *dm5.2* и *dm6.1* (Win et al. 2017), *dm1.1*, *dm3.1*, *dm4.1*, *dm5.1*, *dm5.2* (Li et al., 2018), *dm4.1.1*, *dm4.1.2*, *dm4.1.3* (Berg et al., 2020).

К настоящему времени не существует сортов и F1-гибридов огурца с полной вертикальной устойчивостью к ложной мучнистой росе, выявлены лишь формы с разной степенью устойчивости. Таким образом, необходимо подбирать

формы, обладающие комплексной устойчивостью к нескольким физиологическим расам возбудителя ложной мучнистой росы.

1.6 Женский тип цветения огурца

Огурец (*Cucumis sativus* L.) является однодомным растением. Растение огурца может производить мужские (тычиночные), женские (пестичные) и гермафродитные цветки. Соотношение всех трех типов цветков дает огромное разнообразие половых типов у огурца. Так, по мнению Пыженкова В.И. (1981) у огурца существует 30 половых типов, что является теоретически возможным разнообразием.

Таким образом существуют наиболее часто встречаемые формы: 1) гиноцийные, имеющие преимущественно женские цветки; 2) моноцийные или однодомные, имеющие преимущественно мужские и незначительное число женских цветков; 3) андромоноцийные, имеющие мужские и гермафродитные цветки; 4) гермафродитные, имеющие только гермафродитные цветки; 5) гиномоноцийные, имеющие женские и гермафродитные цветки (Пыженков В.И., 1987).

Наиболее точным показателем выраженности пола является соотношение узлов с женскими цветками и узлов с мужскими цветками. Номер узла с на главном побеге с первым женским цветком также может служить показателем выраженности пола у огурца. Чем ниже узел с женским цветком, тем более значительно выражен женский пол у образца (Пыженков В.И., 1981).

В 1929 году Н.Н. Ткаченко (1935) впервые обнаружил форму огурца с женским типом цветения у образца ВИР, полученного из Японии. Это явление, при котором у однодомного растения преимущественно формируются женские цветки. Благодаря данной форме в 1956 году был создан первый в мире гибрид на основе женского типа цветения – Успех 221.

Использование в качестве материнского компонента частично двудомных сортов имело недостаток: при скрещивании таких форм с однодомным сортом в потомстве наблюдали растения женского типа цветения и однодомные растения.

Примеси однодомных растений в материнской линии необходимо удалять, что приводило к дополнительным трудозатратам. Дальнейшая работа по насыщению материнских линий женскими цветками привела к сложностям, связанным с размножением линий с женским типом цветения из-за недостатка мужских цветков.

Позднее ряд исследователей установили искусственные способы смещения пола у огурца в мужскую или женскую сторону за счет обработки гормонами (этилен, ИУК, НУК) и другими соединениями (нитрат серебра, этрел) (Wen et al., 2020).

1.6.1 Схемы селекции и семеноводства F1-гибридов огурца

Около 85-100 % площадей открытого грунта занято коммерческими F1-гибридами во многих странах, в т.ч. в Российской Федерации. F1-гибриды отличаются рядом преимуществ, включая высокую урожайность и выравненность, устойчивость к наиболее распространенным патогенам и абиотическим факторам. Однако главным недостатком F1-гибридов являются значительные трудозатраты при получении гибридных семян. Таким образом, одним из перспективных направлений в селекции является упрощение гибридного семеноводства (Налобова, В.Л., 2012).

К настоящему времени для получения гибридных семян применяют двухлинейную и трехлинейную схему. В случае двухлинейной схемы в качестве материнского компонента используют гиноцийную линию, в качестве отцовского компонента – гиноцийную, андромоноцийную, гермафродитную, или моноцийную форму (Бунин М.С., 2011).

Трёхлинейную схему обычно используют для производства гибридных семян в больших количествах с минимальными затратами. В этом случае в качестве материнских компонентов используют сложные материнские формы. Сложные материнские формы размножают путем скрещивания материнской гиноцийной формы с гермафродитной или андромоноцийной, составляющей изогенную пару. Полученные семена используют в качестве материнского

компонента для F1-гибрида. Таким образом были созданы гетерозисные гибриды F1 ТСХА-575, F1 ТСХА-2693 (Г.И. Тараканов и др., 1987; О.Н. Крылов, 2011). Одним из недостатков трехлинейной схемы создания, помимо высоких финансовых и трудовых затрат, является расщепление в потомстве при скрещивании гиноцийной формы с гермафродитной. В потомстве половина растений с гермафродитными цветками, половина – с женскими.

Наиболее часто используемой двухлинейной схемой создания F1-гибридов является схема с использованием двух гиноцийных линий. Отцовский компонент обрабатывают раствором нитрата серебра для индукции образования мужских цветков. Однако линии могут различаться по отзывчивости на обработку азотнокислым серебром, поэтому необходимо проводить опрыскивание несколько раз. Помимо этого, образовавшихся мужских цветков может быть недостаточно, чтобы получить необходимое количество гибридных семян (Ткаченко Н.Н., 1979, Коротцева И. Б., 2016, Коротцева И. Б., 2018).

Более перспективной является двухлинейная схема создания F1-гибридов с использованием в качестве отцовского компонента андромоноцийной линии, в качестве материнского – гиноцийной линии. F1-гибриды обладают женским типом цветения, при этом из схемы создания исключается этап обработки раствором нитрата серебра. Однако качество зеленцов снижается. Плоды формируют большую семенную камеру, транспортабельность и лежкость снижается (Осминина Е.В., 2024).

Наиболее экономически выгодной является схема создания F1-гибридов с использованием в качестве отцовского компонента моноцийных линий. Однако F1-гибриды отличаются высоким процентом мужских цветков, что приводит к снижению продуктивности. Важно подбирать материнскую линию с сильным проявлением женского пола, чтобы при скрещивании гиноцийной линии с моноцийной в потомстве наблюдали растения с женским типом цветения (Коротцева И. Б., 2018).

Таким образом, встает необходимость в изучении генетического контроля женского типа цветения у огурца с целью снижения затрат на гибридное семеноводство.

1.6.2 Генетический контроль женского типа цветения

Механизм дифференциации мужских и женских цветков огурца мало изучен. Процесс развития цветка с точки зрения морфологии можно разделить на 2 периода: гермафродитный этап и этап дифференциации. Сразу после формирования цветочные почки имеют зачатки пестика и тычинок. Поэтому данную стадию относят к гермафродитной. Торможение развития мужских или женских гаметофитов происходит в бутонах длиной от 0,5 до 2 мм (Нао et al. 2003; Bai et al. 2004, Wen et al., 2020). При этом сигналы, запускающие развитие пола у цветка, до сих пор не известны.

Согласно многочисленным исследованиям пол у огурца контролируется, как минимум, 4 генами: *F*, *M*, *A*, *G*. Данные гены являются ключевыми генами, определяющими направление дифференцировки пола у огурца. Некоторые исследователи предполагают наличие ряда других генов участвующих в детерминации пола: гены *In-F*, *Tr*, *m2*, *gy*, которые являются генами-модификаторами. На сегодняшний момент гены *F*, *M*, *A* являются наиболее изученными (Galun et al, 1962; Li et al., 2009, Martin et al., 2009, Boualem et al., 2015, Pawełkowicz M. E. et al., 2019).

Пол у огурца определяется взаимодействием генов *F* и *M*. Доминантный ген *F* детерминирует образование завязей. Генотипы, обладающие доминантным аллелем гена *F*, имеют женский тип цветения при взаимодействии с доминантным аллелем гена *M*, при взаимодействии с рецессивным аллелем *m* - являются гермафродитными формами (Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А., 2016).

Ген *A* в доминантном состоянии приводит к увеличению количества узлов с мужскими цветками (Boualem et al., 2015). Ген *G* отвечает за женский тип цветения. Полученный в 2017 году мутант с данным геном путем геномного

редактирования формировал в нижних узлах главного побега гермафродитные цветки, а в верхних – только женские (Hu et al., 2017).

Степень выраженности пола у огурца сильно варьируется и дает серию переходных форм от растений с 100 %-ым женским типом цветения до форм с преимущественно мужскими или гермафродитными цветками. Таким образом, большинство исследователей предполагает полигенную природу признака пола у огурца (Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А., 2018).

Помимо полигенного контроля признака наследование пола у огурца осложняется высокой зависимостью от условий выращивания. На проявление пола у огурца влияют абиотические факторы (длина дня, температура, влажность воздуха, уровень минерального питания) и ряд гормонов (Luo H. et al., 2023).

Короткий день, относительно низкая температура, высокая относительная влажность воздуха, высокий уровень азотного питания обуславливает развитие большого числа женских цветков. Это может объясняться активным развитием корневой системы огурца по сравнению с надземной частью, что приводит к активному синтезу цитокининов, которые способствуют реализации женского пола (Luo H. et al., 2023).

Длинный день, высокие температуры, низкая влажность воздуха, низкий уровень азотного питания обуславливает развитие узлов с мужскими цветками. В данных условиях надземная часть растения развивается быстрее, чем корневая система, что способствует синтезу гиббереллинов, которые влияют на реализацию мужского пола (Luo H. et al., 2023).

Смещение проявления пола у огурца в необходимую сторону может осуществляться искусственным путем за счет обработки различными гормонами и другими соединениями. Так, обработка гиббереллином или нитратом серебра смещает пол в мужскую сторону, обработка 2-хлорэтилфосфоновой кислотой (этрел, гидрел, композан), ИУК, НУК, кинетином, этиленом смещает пол в женскую сторону.

Пыженков В.И. (1981) в своих исследованиях предполагает наличие 4 аллелей гена *F*. Пыженков провел ряд скрещиваний форм с женским типом

цветения с моноцидными, андромоноцидными и гермафродитными формами. В результате, исходя из расщеплений в потомстве при скрещивании разных форм, автор пришел к выводу, что существует несколько аллелей гена F , отличающихся по степени выраженности женского пола при взаимодействии с геном M . Степень выраженности женского пола усиливается в следующем порядке $F'' > F' > F > f$.

В 2015 году было проведено изучение данных, полученных от секвенирования 115 образцов огурца. Авторы исследования провели сравнительный анализ области гена F . В результате было обнаружено, что F -область представляет собой повторяющийся участок длиной 30,2 т.п.н., который встречается в 1, 2 или 4 копиях в зависимости от образца (Zhang et al., 2015). Исследование 2020 года указывает на наличие консервативного и нестабильного участка с изменяемым числом копий в локусе F (Li et al., 2020). Вышеуказанные данные предположительно могут подтверждать исследования Пыженкова В.И.

При скрещивании генотипов с сильными аллелями гена F с моноцидными формами потомство будет иметь женский тип цветения. Таким образом, использование таких форм в двухлинейной схеме создания F1-гибридов способствует снижению себестоимости гибридных семян за счет исключения этапа обработки раствором нитрата серебра отцовского компонента. При этом F1-гибриды будут обладать высокой продуктивностью, так как обладают высокой насыщенностью женскими цветками.

2. Материалы и методы

2.1 Место выполнения исследования

Работа выполнена в 2021-2024 годах на кафедре ботаники, селекции и семеноводства садовых растений и в лаборатории генетики, селекции и биотехнологии овощных культур ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева.

2.2 Изучение влияния факторов индукции гиногенеза огурца

2.2.1 Растительный материал

В качестве растительного материала (растений-доноров изолированных семязачатков) использовали 12 образцов огурца: 8 коммерческих F1-гибридов и 1 линию, 3 селекционные гибридные комбинации, предоставленных ООО «Селекционная станции имени Н.Н. Тимофеева».

2.2.2 Условия выращивания растений-доноров изолированных семязачатков

Растения-доноры, используемые для культуры изолированных семязачатков и культуры фрагментов завязей *in vitro*, выращивали в условиях защищенного грунта. Посев производили в несколько сроков: вторая-третья декада апреля и третья декада июля. Посев проводили вручную на глубину 1 см в горшки объемом 1 л, наполненные торфяным субстратом (Агробалт, Россия), заправленным комплексными минеральными удобрениями N 120, P₂O₅ 80, K₂O 140, Mg 30, Ca 170 мг/л, Cu 9, Mn 40, Zn 9, Co 0,001 мг/кг, pH (H₂O) 5,5-6,6.

Через 30 суток в фазе 3-4 настоящих листьев растения высаживали в пленочную теплицу с естественным освещением. Густота стояния растений составляла 4 шт./м². Через 5 суток растения подвязывали к шпалере. Осуществляли удаление усов. Ослепление узлов и укорачивание боковых побегов не производили. Осуществляли корневые подкормки аммиачной селитрой каждую неделю, полив производили по мере необходимости.

2.2.3 Культура изолированных семязачатков, культура семязачатков в составе фрагментов завязей

Культура изолированных семязачатков по (Домблидес Е.А., 2019).

Отбор завязей производили через 2 недели после распускания первого женского цветка.

Завязи на стадии за 1 сутки до раскрытия цветка с вечера изолировали при помощи ваты для исключения случайного опыления цветка насекомыми, утром завязи отбирали в фазе полураскрытого венчика.

Завязи промывали под большим количеством проточной воды, удаляли околоцветник и трихомы. Поверхностную стерилизацию осуществляли в условиях ламинарного бокса в растворе 70 %-ного этанола в течение 60 сек. Затем завязи помещали в раствор 2 %-ного гипохлорита натрия с добавлением 1-2 капель Tween 20 в течение 10 минут с последующим трехкратным промыванием в стерильной дистиллированной воде в течение 1, 5, 10 мин.

Семязачатки изолировали при помощи пинцета и скальпеля и помещали на твердую питательную индукционную среду в чашки Петри диаметром 3,5 см по 25 штук в чашку. Из каждой завязи выделяли 50 семязачатков. Повторность – 50 семязачатков.

В качестве индукционной питательной среды использовали ИМС (Домблидес Е.А., 2019), дополненную 0,2 мг/л TDZ, 3 % сахарозой и 0,7 % агаром (Приложение А). Тидиазурон стерилизовали при помощи фильтрстерилизации, добавляли после автоклавирования. рН среды 5,8 до автоклавирования. Перенос на свежую питательную среду осуществляли каждые 2 недели.

При формировании эмбриоподобных структур из семязачатков экспланты переносили на регенерационную питательную среду СВМ, дополненную 0,2 мг/л 6-BAР, 0,05 мг/л NAA, 2 % сахарозой, 0,3 % фитагелем.

Экспланты инкубировали при температуре 25 °С, 16-часовом фотопериоде.

В качестве повторности использовали завязь. Для каждого изучаемого фактора было использовано не менее 5 повторностей.

Культура семязачатков в составе фрагментов завязей (Diao, W. P., 2009)

Завязи отбирали за 1 сутки до раскрытия венчика, в стадии ярко-окрашенного цветка. Поверхностную стерилизацию проводили по методике, описанной выше.

Семязачатки в составе поперечных фрагментов завязей толщиной 0,5-1 мм помещали на твердую питательную среду в чашки Петри диаметром 10 см по 1 завязи на чашку. Повторность – 1 завязь.

В качестве индукционной питательной среды использовали MS (Murashige T., Skoog F., 1962), дополненную 0,04 мг/л TDZ, 3 % сахарозой, 0,8 % агаром, 10 мг/л нитрата серебра (Приложение А). Раствор нитрата серебра стерилизовали при помощи фильтрстерилизации, добавляли после автоклавирования. Тидиазурон растворяли при помощи 1 мл 1 М КОН, доводили бидистиллированной водой до концентрации 1 мг/мл, стерилизовали при помощи фильтрстерилизации, добавляли после автоклавирования. рН среды 5,8 до автоклавирования.

Экспланты инкубировали при температуре 35 °С в течение 3 суток в темноте, далее - при температуре 25 °С, 16-часовом фотопериоде.

Через 2 недели культивирования на индукционной питательной среде развивающиеся эмбриониды переносили на регенерационную питательную среду. В качестве регенерационной питательной среды использовали MS, дополненную 1,5 мг/л 6-BAР, 3 % сахарозой и 0,8 % агаром, 1,5 мг/л 6-BAР. 6-BAР разводили при помощи 1 мл 1 М КОН, доводили бидистиллированной водой до концентрации 1 мг/мл, стерилизовали при помощи фильтрстерилизации. рН среды 5,8 до автоклавирования. Пересадку эмбрионидов на свежую регенерационную питательную среду осуществляли через каждые 2 недели.

Растения-регенеранты с развитыми коневой системой и побегами отмывали от остатков питательной среды и помещали в контейнеры, наполненные увлажненным торфяным субстратом. Сверху накрывали прозрачным пластиковым контейнером для обеспечения высокого уровня влажности воздуха. Через 3 суток пластиковый контейнер убирали.

Оценка частоты эмбриогенеза

Оценку частоты эмбриогенеза осуществляли через 30 суток после инокулирования на питательную среду. К сформированным эмбриоидам глобулярной стадии развития относили семязачатки, увеличенные в 2 и более раз, ярко-зеленого цвета, выступающие на поверхности поперечного фрагмента завязи. Частоту эмбриогенеза определяли как число сформированных эмбриоидов на завязь.

Оценка уровня ploидности растений-регенерантов методом проточной цитометрии

Оценку уровня ploидности полученных растений-регенерантов проводили до адаптации растений к нестерильным условиям, в культуре *in vitro* с использованием проточного цитометра.

120 мг здоровой молодой ткани листа растений-регенерантов отбирали из культивационных сосудов, измельчали лезвием бритвы в 1 мл лизис (Трис(гидроксиметил)аминометана ($C_4H_{11}NO_3$) – 2,4 г, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,81 г, Triton X-100 0,1 мл, PVP – 1 г на 100 мл готового раствора) и коммерческого окрашивающего буфера CyStain UV Precise P (Sysmex) охлажденного до 4°C. Измельченные листья фильтровали через 50 мкм нейлоновый фильтр. Измерения проводили с использованием проточного цитометра оснащенного 488 нм аргоновой лазерной лампой. Измерению подвергают от 2000 ядер каждого образца. Относительное содержание ДНК определяется в сравнении пиков анализируемых растений-регенерантов и диплоидных образцов при использовании диплоидного образца огурца в качестве стандарта.

2.2.4 Изучение влияния различных факторов на частоту эмбриогенеза

Изучение влияния типа экспланта на частоту эмбриогенеза

Изучение влияния типа экспланта проводили с использованием образцов огурца: 2 коммерческих F1-гибрида F1 Мамлюк, F1 Эстафета. Культивирование изолированных семязачатков и семязачатков в составе фрагментов завязей проводили согласно методике Домблдес Е.А. (2019) и Diao W. P. (2009) с модификациями. Из каждой завязи выделяли 50 семязачатков. Повторность – 50

семязачатков. В случае культуры семязачатков в составе фрагментов завязи в качестве повторности использовали 1 завязь. Для каждого варианта опыта было использовано не менее 5 повторностей.

Изучение влияния стадии развития экспланта на частоту эмбриогенеза

Изучение данных факторов проводили с использованием коммерческих F1-гибридов: F1 Рубинштейн, F1 Дружный, F1 Кайман и линией Феникс1. Культивирование семязачатков проводили согласно методике Diao, W. P. (2009) с модификациями.

Влияние стадии развития завязи на частоту эмбриогенеза изучали при изоляции:

- 1) завязей во время цветения в стадии полураскрытого цветка;
- 2) контроль - завязь за сутки до раскрытия цветка в фазе ярко-окрашенного венчика.

Изучение влияния компонентов индукционной питательной среды на частоту индукции гиногенеза, гидролизата казеина и сахаров

Изучение данных факторов проводили с использованием коммерческих F1-гибридов F1 Рубинштейн, F1 Дружный, F1 Кайман F1 Спринт, F1 Добрыня, гибридных комбинаций № 13, № 21, № 26 и линии Феникс1. Культивирование семязачатков проводили согласно методике Diao, W. P. (2009) с модификациями.

Влияние компонентов индукционной питательной среды на частоту эмбриогенеза изучали при добавлении:

- 1) MS + 250 мг/л, 500 мг/л гидролизата казеина;
- 2) MS + 3 % глюкоза;
- 3) MS + Глутатион 10 мг/л;
- 4) MS + Сочетание регуляторов роста TDZ 0,04 мг/л, 2,4-D 0,15 мг/л;
- 5) MS + Путресцин 0,5 мг/л.

Контроль MS + 3 % сахароза, 0,8 % агар, 0,04 мг/л TDZ, 10 мг/л нитрат серебра.

2.3 Оценка генетической коллекции линий огурца по степени проявления гиноцийности, по «силе» аллелей гена *F*

Для оценки генетической коллекции огурца с различным проявлением выраженности женского пола по силе аллелей гена *F* проводили скрещивание по методу топкросс 23 гиноцийных материнских линий (табл. 8) с отцовскими образцами-тестерами линией Феникс1 и линией РубМ и получали гибридные потомства.

Посев материнских линий и отцовских форм производили в первой декаде апреля в горшки объемом 1 л, наполненные торфяным субстратом (Агробалт, Россия). Через 30 суток рассаду в фазе 3 настоящих листьев высаживали в пленочную теплицу с естественным освещением. Густота стояния растений составляла 4 шт./м². Полив производили по мере необходимости, корневые подкормки аммиачной селитрой осуществляли каждую неделю. Растения подвязывали к шпалере, ослепляли 4-5 нижних узлов, боковые побеги укорачивали до первого узла.

Гибридные комбинации оценивали по выраженности женского пола в условиях открытого и защищенного грунта.

Для оценки влияния условий защищенного грунта на проявление женского пола посев гибридных комбинаций осуществляли в третьей декаде апреля в горшки объемом 1 л, с торфяным субстратом. Растения в фазе 3-4 настоящих листьев высаживали в пленочную теплицу в третьей декаде мая по 8 растений каждой гибридной комбинации. Густота стояния растений составляла 4 шт./м². Формировку растений не производили с целью оценки количества узлов с мужскими и женскими цветками.

Посев гибридных комбинаций для оценки влияния условий открытого грунта на проявление пола осуществляли в кассеты 8×8, наполненные торфяным субстратом в первой декаде июля. В фазе 1 настоящего листа в конце второй декады июля растения высаживали в открытый грунт по 2 повторности каждой гибридной комбинации. Одна повторность – 8 растений.

Гибридные комбинации оценивали на проявление женского пола по числу узлов с женскими цветками и числу узлов с мужскими цветками на центральном побеге. Смешанные узлы определяли как узлы с мужскими цветками.

Для оценки аллельного состояния гена *F* определяли среднее количество узлов с мужскими цветками для каждой гибридной комбинации, ранжировали гибридные комбинации по числу узлов с мужскими цветками и определяли аллели гена *F* материнских гиноцийных линий.

2.4 Изучение устойчивости новых гибридных комбинаций партенокарпического огурца к ложной мучнистой росе

Для оценки устойчивости к пероноспорозу использовали гибридные комбинации, полученные при скрещивании 23 гиноцийных линий с линией Феникс1, устойчивым к ложной мучнистой росе.

Полученные гибридные комбинации оценивали по устойчивости к пероноспорозу в открытом грунте на естественном инфекционном фоне в 2023-2024 гг. Посев гибридных комбинаций осуществляли в кассеты 8×8, наполненные торфом в первой декаде июля в 2023 году, в 2024 – в конце третьей декады июня. Растения высаживали в открытый грунт в фазе 1 настоящего листа в конце второй декады июля в 2023 году, в 2024 – в первой декаде июля. Схема высадки рассады 70+40×30. Опыт заложили рандомизированным методом по 8 растений в двухкратной повторности в 2023 году, в трехкратной повторности в 2024 году.

Оценку гибридных комбинаций на устойчивость к ложной мучнистой росе проводили по 10-балльной шкале, выраженной в процентной доле поражения поверхности листа от его общей площади (S.F. Jenkins и T.C. Wehner, 1983): 0 балл – 0%, 1 балл – 1-3%, 2 балла – 3-6%, 3 балла – 6-12%, 4 балла – 12-25%, 5 баллов – 25-50%, 6 баллов – 50-75, 7 баллов – 75-87%, 8 баллов – 87-99, 9 баллов – 100% поражение. Балл поражения каждого растения определяли по высшему баллу поражения листьев. Средний балл поражения рассчитывали по следующей формуле:

$$Сб = \frac{\sum_n^i(r \times b)}{n}$$

где r – число пораженных растений, b – балл поражения, n – число учитываемых растений.

В качестве стандартов использовали устойчивые к ложной мучнистой росе линии Феникс1 и коммерческий F1-гибрид F1 Спринт, восприимчивый коммерческий F1-гибрид F1 Хоббит.

Первую оценку степени поражаемости пероноспорозом проводили при поражении восприимчивого стандарта более 85 %. Через 7 дней проводили повторную оценку.

2.4.1 Погодно-климатические условия проведения полевых опытов

Согласно данным метеорологической обсерватории имени В.А. Михельсона РГАУ-МСХА, среднесуточная температура воздуха в весенне-летний период 2023 г. в среднем была на 3 °С выше среднегодовой (рис 1). Наблюдали существенное понижение температуры воздуха ночью. Ночные температуры воздуха в среднем достигали 14,6 °С. Перепады дневной и ночной температур в среднем составляли 10 °С (рис. 1). Количество осадков за этот период составило 266 мм, что на 6 % превысило средние многолетние данные (рис. 2). Относительная влажность воздуха в 2023 году колебалась от 68 до 82 % (рис. 3). Данные условия способствовали активному развитию пероноспороза.

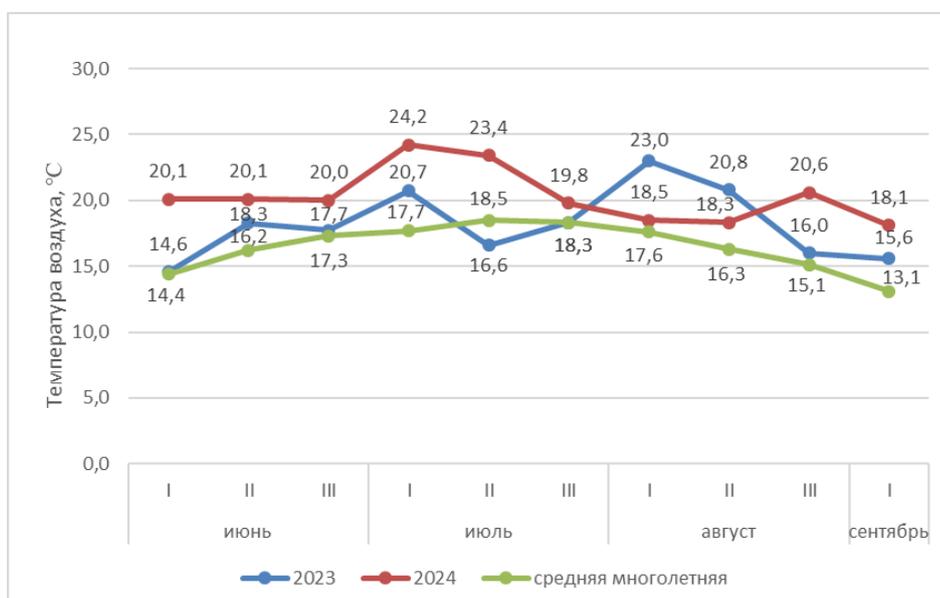


Рисунок 1 – Средняя декадная температура воздуха в период вегетации огурца, °С

В 2024 году среднесуточная температура превышала средние многолетние данные на 4 °С (рис. 1). В июле минимальная ночная температура составляла в среднем 17 °С, в августе – 14,3 °С. Перепады дневной и ночной температур приводят к формированию росы, что способствует активному развитию ложной мучнистой росы. Однако средние суточные температуры в третьей декаде августа и первой декаде сентября составляли от 18,1 до 20,6 °С, что привело к снижению активности патогена и отрастанию новых листьев и побегов у растений огурца. Количество осадков в конце августа – начале сентября было существенно ниже по сравнению с средними многолетними данными, что способствовало снижению темпов заражения ложной мучнистой росой (рис. 2). Относительная влажность воздуха в 2024 году была в среднем на 10 % ниже по сравнению с данными 2023 года (рис. 3). Таким образом, резкие перепады дневных и ночных температур в июле и августе способствовали высоким темпам распространения пероноспороза. В конце августа – начале сентября развитие патогена замедлилось за счет высоких положительных температур и сниженного количества осадков.

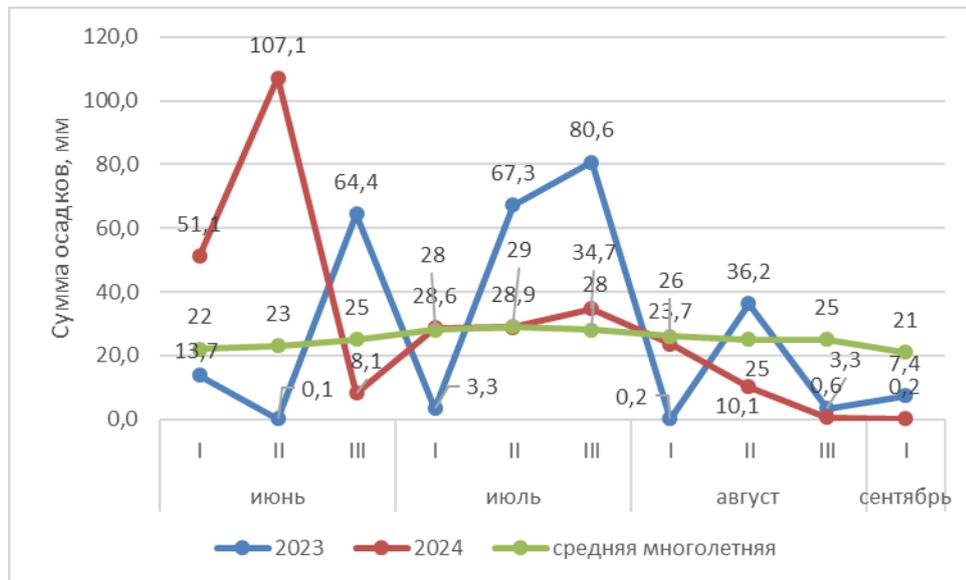


Рисунок 2 – Сумма осадков по декадам в период вегетации огурца, мм

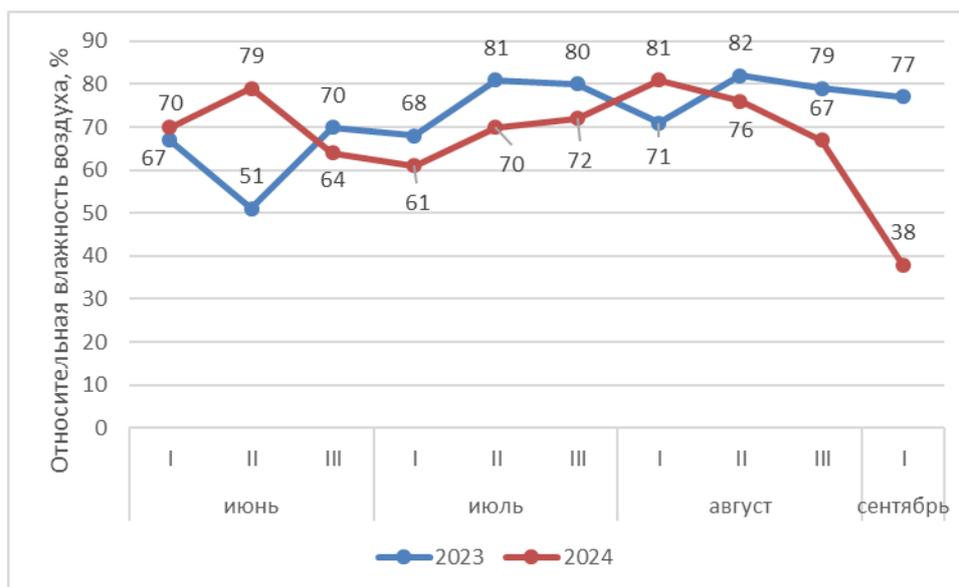


Рисунок 3 – Относительная влажность воздуха по декадам в период вегетации огурца, %

2.5 Статистическая обработка

Хранение и систематизацию данных проводили с использованием Microsoft Excel, статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программного пакета R Studio.

Статистический анализ данных при сравнении экспериментальных данных по оценке влияния факторов на частоту эмбриогенеза в культуре *in vitro* провели с помощью теста Манна-Уитни на 5 %-ом уровне значимости ($P < 0,05$). Оценку существенности различий частоты эмбриогенеза между исследуемыми образцами огурца проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа.

Оценку существенности различий между изучаемыми гибридными комбинациями проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа по признакам «общая продуктивность», «масса плода», «число плодов», «число побегов 1-го порядка ветвления», «поражение ложной мучнистой росой».

Расчет ОКС в системе топкросс проводили по формулам А.В.Крючкова (Бунин и др., 2011). Существенность различий между вариантами по ОКС по признакам «общая продуктивность», «масса плода», «число плодов», «число побегов 1-го порядка ветвления» определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Изучение влияния различных факторов на частоту индукции гиногенеза

3.1.1 Изучение влияния типа экспланта на частоту индукции гиногенеза

При культивировании изолированных семязачатков огурца согласно методике Домблидес Е.А. (2019) отметили формирование эмбриоидов, наблюдали изменение окраски с белого на зеленый и увеличение размеров семязачатков в 2-3 раза через неделю после инокуляции эксплантов на индукционную питательную среду (рисунок 4А). Через 2-3 недели эмбриоиды формировали каллус желтоватого или прозрачного цвета (рисунок 4Б). У единичных семязачатков наблюдали формирование морфогенных структур из каллуса. Через 2 месяца культивирования на питательной среде отмечали некроз тканей семязачатков у всех образцов.

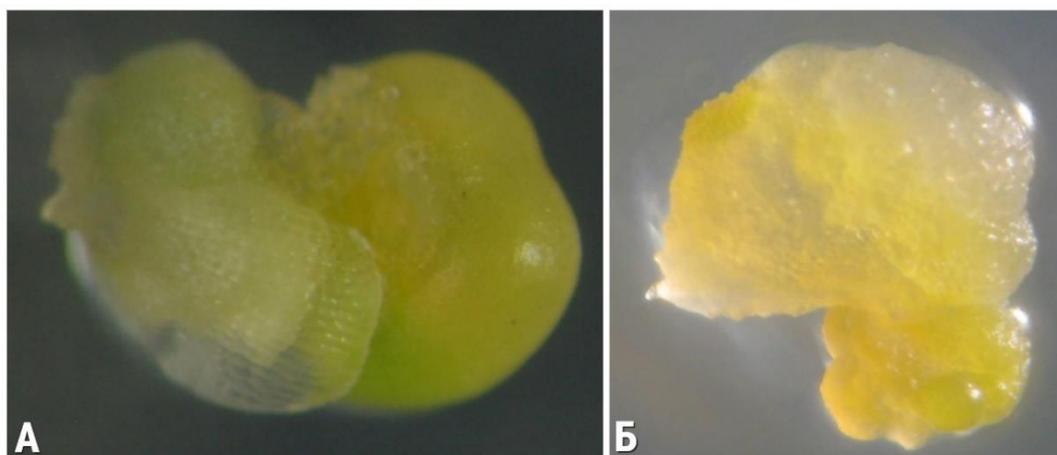


Рисунок 4 – Гиногенное развитие изолированного семязачатка, образец F1 Эстафета: А) 9 ДПИ (дней после инокулирования экспланта на питательную среду), Б) 41 ДПИ

При культивировании семязачатков в составе поперечных фрагментов завязей (Diao, W. P., 2009) формирование видимых структур наблюдали через 1 неделю после инокуляции на твердую питательную среду. Семязачатки на поверхности поперечных фрагментов завязей увеличивались в 2 и более раз, изменяли цвет с белого на зеленый, что соответствует сформированному эмбриоиду согласно данным Deng Y. (2020) (рисунок 5А). Через 2 недели

культивирования на поверхности фрагментов завязей формировались полупрозрачные клетки каллуса.

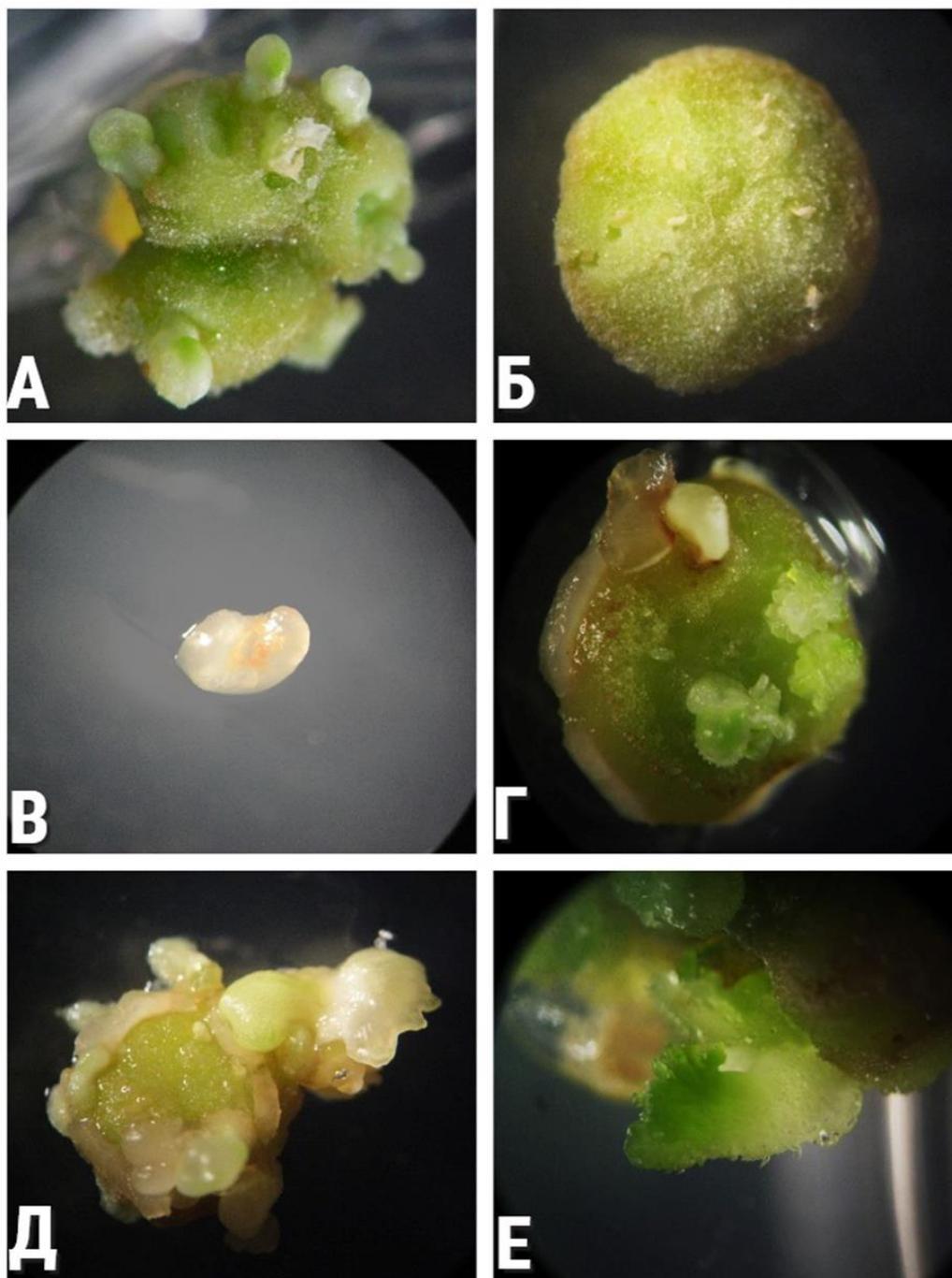


Рисунок 5 – Вариации гиногенного развития в культуре фрагментов огурца: А) Сформированные эмбриониды на поверхности поперечного среза завязи огурца; Б) Диск завязи с неотзывчивыми семязачатками; В) Эмбрионид, спонтанно отделившийся от диска завязи; Г) Морфогенные структуры, сформированные из эмбрионидов; Д) Органогенный каллус и органогенез; Е) Прямое прорастание эмбрионидов

Образование видимых каллусных клеток из эмбриоидов не наблюдали. Неотзывчивые образцы не формировали эмбриоиды. Фрагменты завязей неотзывчивых образцов формировали только клетки каллуса на поверхности среза (рисунок 5Б). Через 2 месяца культивирования фрагменты завязей неотзывчивых образцов изменяли цвет с зеленого на желтый, что приводило в последующем к некрозу экспланта.

Было отмечено, что спонтанно отделившиеся эмбриоиды от поперечного фрагмента завязи не формировали морфогенные структуры. Через 3-4 недели наблюдали некроз тканей отделившихся эмбриоидов (рисунок 5В).

Через 30-90 суток от начала культивирования в зависимости от образца наблюдали развитие каллусной ткани, морфогенных структур и органов из эмбриоидов (рисунок 5Г, 5Д). Наблюдали один случай вторичного эмбриогенеза (рисунок 5Е). В отдельных случаях отмечали морфогенез из эмбриоидов (рисунок 6А, 6Б). Ткани оболочки эмбриоида повреждались за счет роста морфогенных структур.

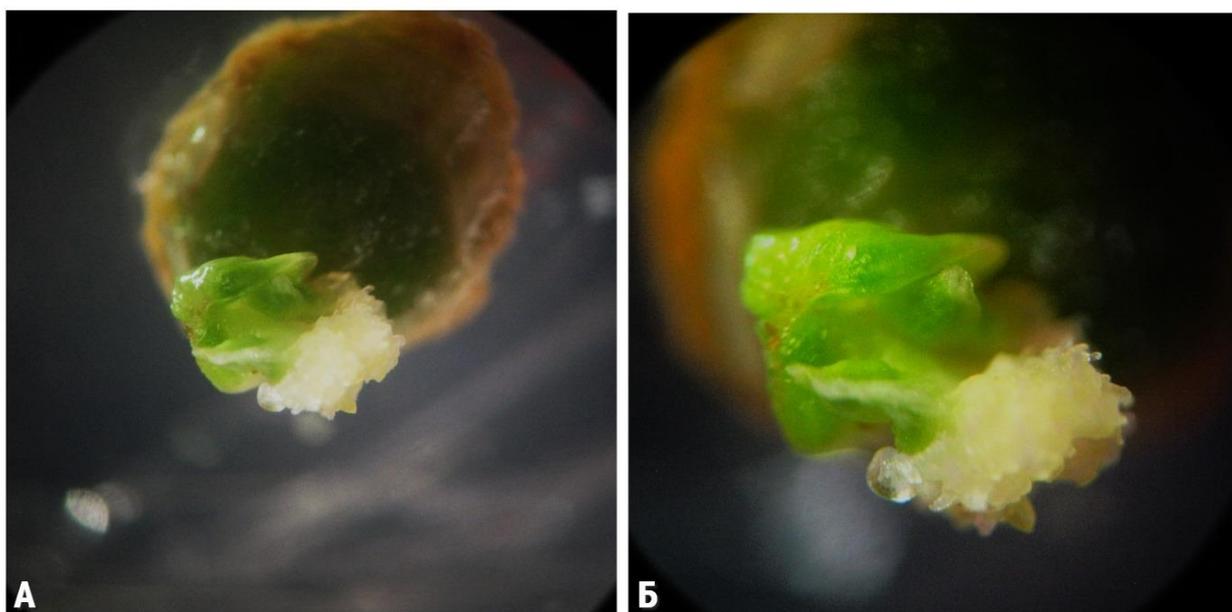


Рисунок 6 – Развитие морфогенных структур из эмбриоида огурца в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей: А) Общий вид поперечного фрагмента завязи огурца с развивающимся эмбриоидом, Б) Морфогенные структуры, сформированные из эмбриоида

Через 100-120 суток от начала культивирования наблюдали формирование листьев и побегов с короткими междоузлиями (рисунок 7А, 7Б).

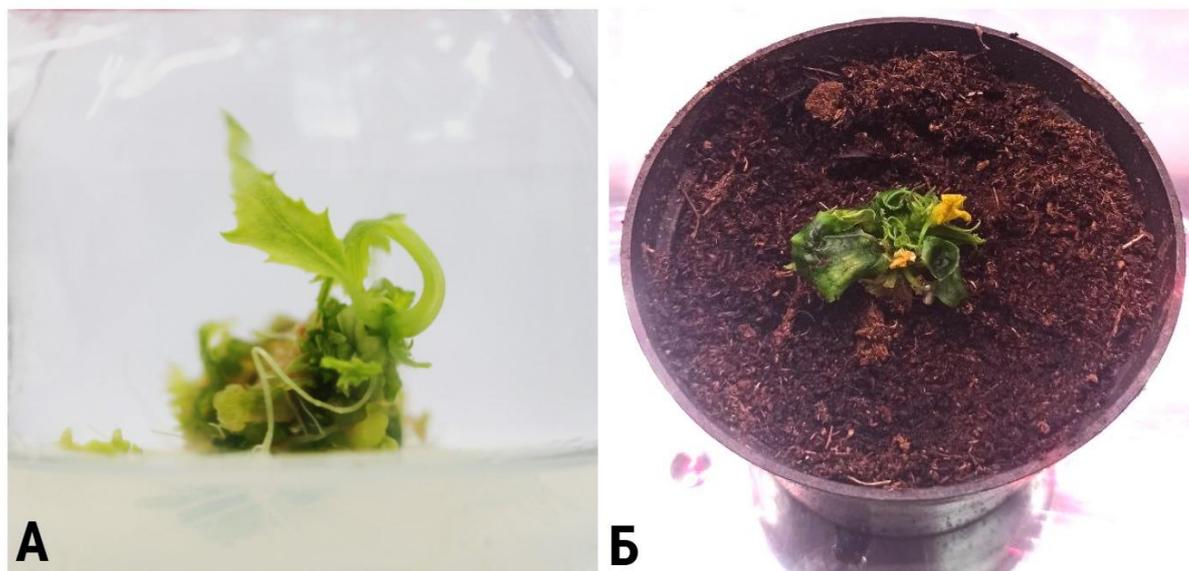


Рисунок 7 – Сформированные растения-регенеранты огурца в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей: А) Растение-регенерант огурца, готовое к адаптации и укоренению в субстрате, Б) Адаптированное растение-регенерант огурца

Растения-регенеранты имели несколько точек роста, в которых формировались листья и мужские цветки. Полученные растения-регенеранты укореняли в торфяном субстрате и адаптировали. Растения отмывали от остатков питательной среды и высаживали в контейнер, наполненный торфом. Сверху накрывали прозрачным пластиковым контейнером для обеспечения высокого уровня влажности воздуха. Через 3-5 суток пластиковый контейнер убирали.

Оценка плоидности сформированных растений-регенерантов с использованием проточного цитометра. Анализ уровня плоидности культивируемых растений-регенерантов показал, что полученные растения являются миксоплоидами, о чем свидетельствует три пика на графике, отражающих присутствие в анализируемых тканях листа диплоидных, тетраплоидных клеток, и тетраплоидных клеток в стадии G2, в сравнении с графиком диплоидного стандарта (рис. 8).

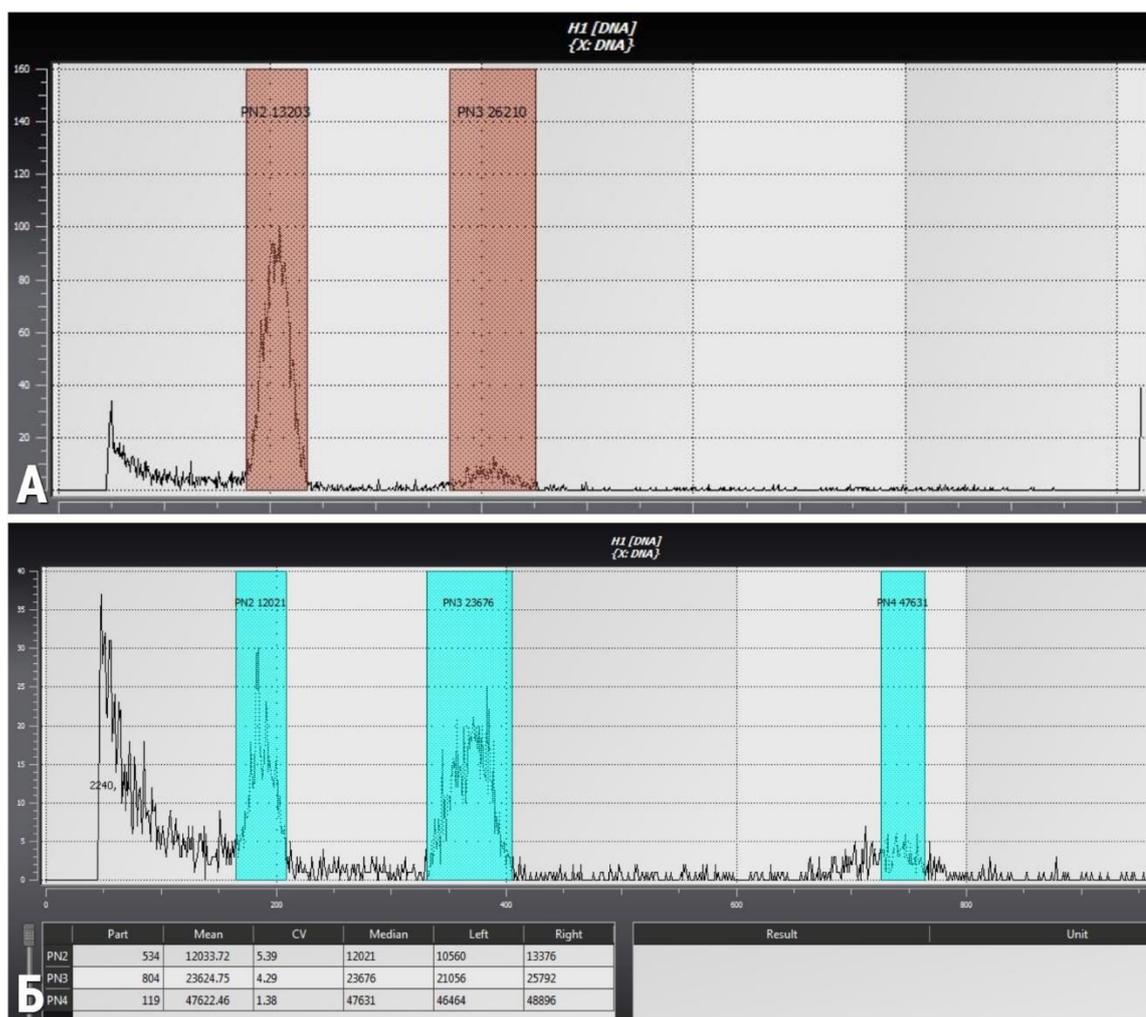


Рисунок 8 – Графики, отражающие уровень плоидности образцов огурца: А) Диплоидный образец, Б) Миксоплоидный образец, полученный в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца (образец F1 Дружный).

Сниженное количество анализируемых ядер растений-регенерантов, выявляемое по высоте пиков на графике (рис. 8Б) может указывать на возможный чрезмерный стресс растений-регенерантов при культивировании *in vitro*, который в последующем вероятно отражается и на низкой регенерационной способности эмбриоидов, и на низкой выживаемости растений-регенерантов при укоренении и адаптации. Это свидетельствует о необходимости поиска модификаций индукционной и регенерационной питательных сред для оптимизации и стабильного производства линий удвоенных гаплоидов огурца в культуре *in vitro*.

Формирование эмбриоидов было отмечено при культивировании изолированных семязачатков и семязачатков в составе фрагментов завязей. Однако

формирование морфогенных структур из эмбриодов наблюдали только при культивировании семязачатков в составе поперечных фрагментов завязей (табл. 1).

Таблица 1 – Жизнеспособность эмбриодов, сформированных в культуре изолированных семязачатков и в культуре семязачатков в составе фрагментов завязи, шт./завязь

Образец	Число суток после инокулирования	Культура изолированных семязачатков, шт.	Культура семязачатков в составе фрагментов завязи, шт.
F1 Эстафета	30	163	207
	60	7	195
F1 Мамлюк	30	111	45
	60	0	32

Сформированные эмбриоды из изолированных семязачатков и семязачатков, спонтанно отделившихся от фрагмента завязи, через 2 месяца погибали. Так, например, из 250 инокулированных на питательную среду семязачатков, было сформировано 163 эмбриода у образца F1 Эстафета, у образца F1 Мамлюк – 111 эмбриодов. В культуре семязачатков в составе фрагментов завязей было сформировано 207 эмбриодов у образца F1 Эстафета, у образца F1 Мамлюк – 45 эмбриодов. Через 60 суток в культуре изолированных семязачатков наблюдали некроз тканей эмбриодов всех образцов. В результате через 60 суток культивирования у образца F1 Эстафета было отмечено 7 живых эмбриодов, у образца F1 Мамлюк – 0 эмбриодов. В культуре семязачатков в составе фрагментов завязей наблюдали незначительное снижение числа живых развивающихся эмбриодов: у образца F1 Эстафета – 195, у образца F1 Мамлюк – 32 эмбриодов (табл. 1).

Большая часть исследователей использует в качестве экспланта для создания удвоенных гаплоидов путем гиногенеза продольные или поперечные фрагменты завязей (Deng Y. et al., 2020, Golabadi M. et al., 2017, Moqbeli, E. et al., 2013, Li, J. et al., 2013, Tantasawat, P. A. et al., 2015, Ozsan T. et al., 2017, Sorntip A. et al., 2017).

Ряд авторов отмечает, что культивирование изолированных семязачатков является наиболее эффективным методом (Шмыкова, Супрунова, 2009, Домблидес Е.А., 2019). Изоляция семязачатков представляет собой трудоемкий и длительный процесс. Кроме того, при выделении семязачатков из завязи возникает вероятность их повреждения, что может снизить впоследствии частоту индукции гиногенеза и регенерантов. Erol M. H. и Sari N. (2019) в своем исследовании при сравнении влияния типа экспланта на эффективность технологии производства удвоенных гаплоидов огурца отметили, что образование эмбриоидов и проростков было только при культивировании семязачатков в составе продольных фрагментов завязей огурца.

Таким образом, использование в качестве экспланта семязачатков в составе поперечных фрагментов завязей позволяет производить жизнеспособные гиногенные эмбриоиды для создания удвоенных гаплоидов огурца.

3.1.2 Изучение влияния генотипа донорного растения на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца

В результате оценки влияния генотипа на отзывчивость в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца было отмечено, что все исследуемые образцы являются отзывчивыми. Частота эмбриогенеза варьировала от 7,8 (образец Феникс1) до 85,9 эмбр./завязь (образец F1 Рубинштейн) (табл. 2).

Таблица 2 – Частота эмбриогенеза коллекции образцов огурца в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей и их дифференциации по группам отзывчивости

№	Образец	Число эмбриоидов, шт./завязь	Группа отзывчивости
1.	F1 Рубинштейн	85,9	высокоотзывчивый
2.	F1 Дружный	40,6	среднеотзывчивый
3.	F1 Кайман	46,6	среднеотзывчивый
4.	Линия Феникс1	7,8	низкоотзывчивый
5.	F1 Лист	17,7	низкоотзывчивый

6.	F1 Спринт	14,8	низкотзывчивый
7.	F1 Добрыня	32,5	среднеотзывчивый
8.	№ 13	21,8	низкотзывчивый
9.	№ 21	10,9	низкотзывчивый
10.	№ 26	31,1	среднеотзывчивый

Примечание: НСР₀₅ - 31,1 шт./завязь

Для количественной оценки потенциала эмбриогенной способности образцов огурца на основе эмбриогенной отзывчивости представленной выборки генотипов и с учетом наименьшей существенной разницы нами разработана шкала, где: 1 - 31 эмбр./завязь – низкоотзывчивый генотип, эмбр./завязь – 32 - 63 эмбр./завязь - среднеотзывчивый генотип, ≥ 64 эмбр./завязь – высокоотзывчивый генотип.

Генотип – главный ограничивающий фактор технологии создания удвоенных гаплоидов. В данном исследовании все образцы оказались отзывчивыми и формировали эмбриониды. В группу высокоотзывчивых выделен 1 из 10 образцов (10%), в группу среднеотзывчивых – 4 из 10 (40 %), остальные 5 из 10 образцов (50%) - в группу низкоотзывчивых. Однако, растения-регенеранты удалось получить не у всех образцов. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, согласно которым формирование эмбрионидов наблюдали у всех генотипов, но дальнейшую регенерацию отмечали только у части генотипов (Diao et al., 2009; Moqbeli E. et al., 2013; Tantasawat P. A. et al. 2015; Домблидес Е.А. и др., 2019).

3.1.3 Изучение влияния гидролизата казеина на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца

При культивировании фрагментов завязей на индукционной питательной среде, дополненной 500 мг/л гидролизата казеина не наблюдали значимых различий на 5 %-ном уровне значимости по частоте эмбриогенеза по сравнению с питательной средой без добавления гидролизата казеина у всех генотипов за исключением № 26 (табл. 3). Отмечали повышение частоты формирования

эмбриоидов при культивировании на питательной среде с добавлением 500 мг/л гидролизата казеина у всех образцов кроме № 13, № 21, № 26. У генотипа № 26 наблюдали достоверно значимое снижение частоты эмбриогенеза на питательной среде, дополненной 500 мг/л гидролизата казеина.

Таблица 3 – Влияние гидролизата казеина в концентрации 500 мг/л на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Генотип	Без добавления гидролизата казеина	Гидролизат казеина, 500 мг/л
F1 Рубинштейн	85,9 а	72,1 а
F1 Дружный	68,9 а	97,4 а
F1 Кайман	46,6 а	49,6 а
Феникс 1	7,8 а	14,75 а
F1 Лист	17,7 а	30,6 а
F1 Спринт	14,8 а	33,0 а
F1 Добрыня	32,5 а	37,0 а
№ 13	21,8 а	12,8 а
№ 21	10,9 а	7,5 а
№ 26	31,1 а	13,5 б

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (а), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

При культивировании поперечных фрагментов завязей на питательной среде, дополненной 250 мг/л гидролизата казеина отмечали статистически достоверное повышение частоты эмбриогенеза у 2 образцов из 6 (F1 Спринт, № 21) по сравнению с эксплантами, культивируемыми на питательной среде без добавления гидролизата казеина (контроль) (рис. 9А, 9Б). Добавление в питательную среду 250 мг/л гидролизата казеина значимо снижает среднее число сформированных эмбриоидов у образца № 26 (табл. 4).

Таблица 4 – Влияние гидролизата казеина в концентрации 250 мг/л на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Генотип	Без добавления гидролизата казеина	Гидролизат казеина, 250 мг/л
F1 Спринт	14,8 а	44,8 b
F1 Дружный	22,5 а	32,6 а
F1 Добрыня	32,5 а	34,3 а
№ 13	21,8 а	21,5 а
№ 21	10,9 а	26,8 b
№ 26	31,1 а	16,0 b

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (а), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

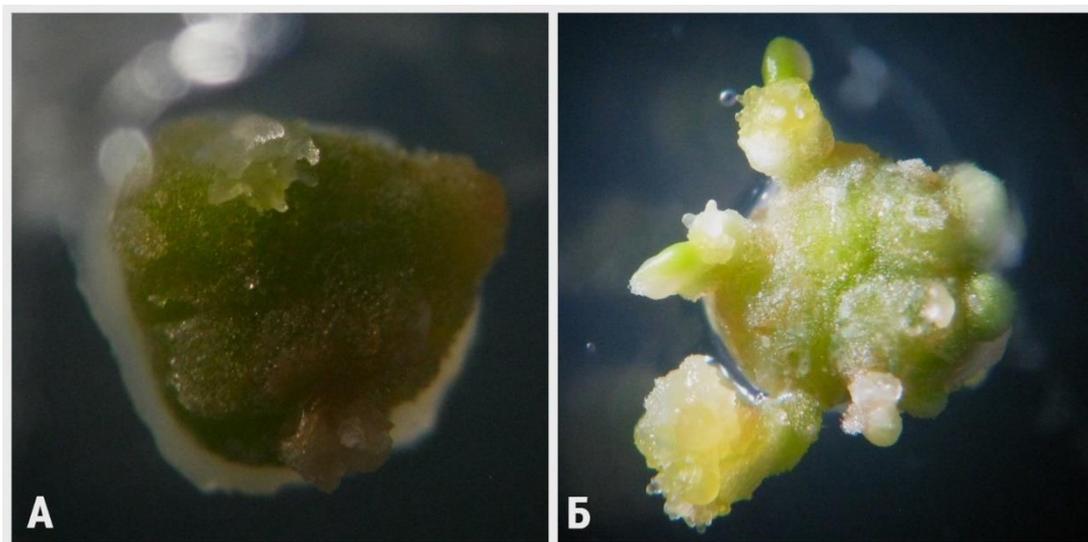


Рисунок 9 – Эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде MS (образец № 21): А) без добавления гидролизата казеина; Б) с добавлением 250 мг/л гидролизата казеина

Таким образом можно сделать вывод, что добавление 500 мг/л гидролизата казеина в индукционную питательную среду менее эффективно по сравнению с сниженной в 2 раза концентрацией 250 мг/л. Средние числа сформированных эмбрионов на питательной среде, дополненной 250 мг/л гидролизата казеина

достоверно повышаются, либо незначительно снижаются по сравнению с питательной средой с добавлением 500 мг/л гидролизата казеина. Так, F1 Спринт в среднем сформировал на питательной среде с добавлением 250 мг/л гидролизата казеина 44,8 эмбриоидов на завязь, на питательной среде с добавлением 500 мг/л гидролизата казеина – 33,0 шт./завязь, без гидролизата казеина – 14,8 шт./завязь. Достоверно значимое снижение частоты эмбриогенеза на 5 %-ном уровне значимости у образца № 26 при добавлении гидролизата казеина можно объяснить генотипической реакцией.

Органические компоненты, включая гидролизат казеина, часто используются в питательных средах в различных биотехнологических методах. Гидролизат казеина служит источником аминокислот и в меньшей степени фосфатов, витаминов и микроэлементов. Некоторые исследования показывают, что гидролизат казеина может быть более эффективным в культуре клеток и тканей, чем аминокислоты. Обычно гидролизат казеина используется при создании удвоенных гаплоидов в культуре пыльников у таких культур, как ячмень, кукуруза и рис (Yeob Lee S. et al., 2003, Tang F. et al., 2006, Sriskandarajah S. et al., 2015).

Zhu Y. с соавторами (2019) использовали индукционную питательную среду с добавлением 600 мг/л гидролизата казеина для индукции гиногенеза в культуре семязачатков арбуза. Skalova D. с соавторами (2010) отметили положительное влияние добавления 1 г/л гидролизата казеина в питательную среду, используемую для технологии спасения зародышей при отдаленной гибридизации видов рода *Cucumis*. Согласно данным Ahmad N. и Anis M. (2005), использование 200 мг/л гидролизата казеина значительно увеличило число пазушных побегов при микроклональном размножении огурца.

3.1.4 Изучение влияния сахаров в индукционной питательной среде на частоту эмбриогенеза

Согласно данным таблицы 5, было отмечено значимое повышение (более, чем в 5 раз) среднего числа эмбриоидов при использовании в качестве источника углеводов 3 %-ной глюкозы у 2 образцов Феникс1 и F1 Лист. Добавление 3 %-ной

глюкозы в индукционную питательную среду незначительно повысило частоту эмбриогенеза у образцов F1 Дружный и F1 Кайман. Наблюдала достоверно значимое снижение частоты эмбриогенеза на 5 %-ном уровне значимости при использовании 3 %-ной глюкозы в индукционной питательной среде у генотипа F1 Рубинштейн.

Таблица 5 – Влияние источника углеводов (сахароза 3 %, глюкоза 3 %) на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Генотип	Сахароза, 3 %	Глюкоза, 3 %
F1 Рубинштейн	85,9 a	38 b
F1 Дружный	68,9 a	85,7 a
F1 Кайман	46,6 a	69,7 a
Феникс1	7,8 a	50,3 b
F1 Лист	17,7 a	95,3 b

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (a), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

Несмотря на значительное повышение частоты индукции гиногенеза, образование морфогенных структур наблюдали только у генотипов, культивируемых на питательной среде, дополненной 3 %-ной сахарозой, кроме низкоотзывчивых на стандартной питательной среде образцов Феникс1 и F1 Лист. Генотипы Феникс1 и F1 Лист формировали морфогенные структуры только при использовании индукционной питательной среды с добавлением 3 %-ной глюкозы (рисунок 10А, 10Б).

Генотипы, культивируемые на индукционной питательной среде с добавлением 3 %-ной глюкозой, формировали гиногенно развивающиеся семязачатки. Через 60 суток культивирования на регенерационной питательной среде наблюдали изменение цвета семязачатков с зеленого на желтый и некроз тканей семязачатка и завязи.

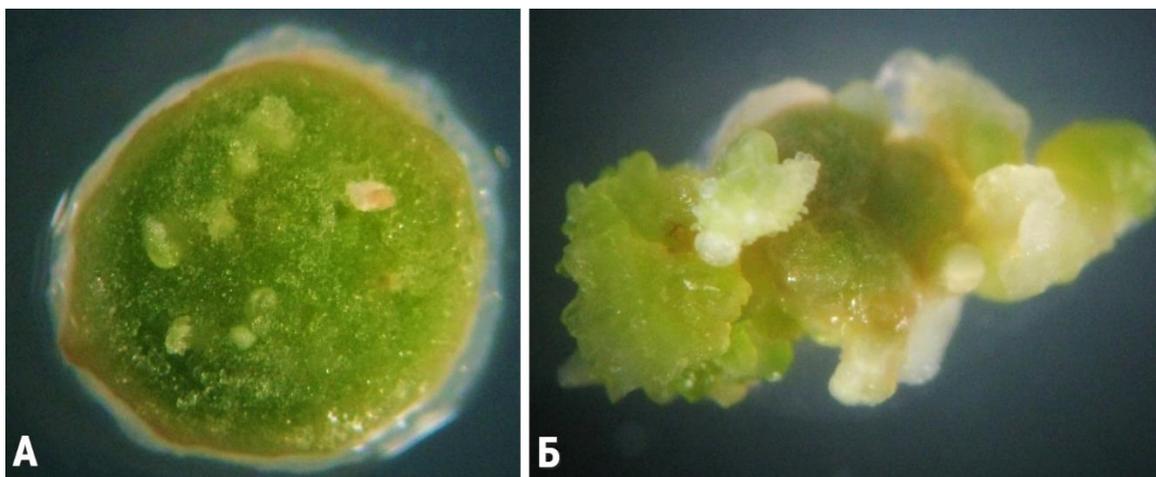


Рисунок 10 – Эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде MS (образец F1 Лист): А) с добавлением сахарозы 3 %; Б) с добавлением 3 % глюкозы

Таким образом, можно сделать вывод, что использование в качестве источника углеводов 3 %-ной глюкозы повышает число гиногенно развивающихся семязачатков, но не приводит к развитию морфогенных структур. Однако добавление 3 %-ной глюкозы может повысить частоту индукции гиногенеза и частоту образования морфогенных структур у низкоотзывчивых генотипов.

На разных культурах были проведены сравнительные исследования по эффективности источника углеводов. Наиболее распространенным источником является сахароза, но в использовании других сахаров также были выявлены преимущества. Несмотря на то, что сахароза является наиболее часто используемым источником углеводов в составе питательных сред, многие исследователи в своих экспериментах выявили преимущества замены сахарозы на глюкозу. Так, по данным Lou H., Kako S. (1995) совместное действие сахарозы и глюкозы в концентрации 0,25 и 0,5 М соответственно повышало частоту соматического эмбриогенеза при культивировании семядолей огурца. В исследовании Guis M. с коллегами (1997) было показано, что использование 30 г/л глюкозы в составе питательной среды привело к повышению частоты соматического эмбриогенеза у дыни.

3.1.5 Изучение влияния стадии развития экспланта на частоту эмбриогенеза

Стадия развития экспланта – один из решающих факторов, влияющих на эффективность технологии создания удвоенных гаплоидов. Для выявления влияния стадии развития экспланта на частоту гиногенного развития семязачатков использовали завязь за 1 сутки до раскрытия цветка, завязь в фазе открытого цветка, отобранную с утра (рисунок 11А, 11Б).



Рисунок 11 – Стадии развития завязи перед инокуляцией экспланта на индукционную питательную среду MS образца огурца F1 Рубинштейн: А) завязь во время цветения, Б) завязь за 1 сутки до раскрытия цветка

Согласно данным таблицы 6, у образцов F1 Дружный и F1 Кайман, отмечали незначительное повышение частоты эмбриогенеза при культивировании завязи, отобранной во время цветения. При этом образец F1 Рубинштейн показал снижение частоты эмбриогенеза при отборе завязи во время цветения по сравнению с культивированием завязи, отобранной за 1 сутки до цветения (85,9 и 45,6 шт./завязь соответственно). Низкоотзывчивые генотипы Феникс1 и F1 Лист показали статистически значимое повышение среднего числа сформированных эмбрионов при использовании завязи, отобранной во время цветения, более, чем в 2 раза.

Таблица 6 – Влияние стадии развития экспланта на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Генотип	Завязь за 1 сутки до цветения	Завязь во время цветения
F1 Рубинштейн	85,9 а	45,6 а
F1 Дружный	68,9 а	86,3 а
F1 Кайман	46,6 а	56,3 а
Феникс1	7,8 а	37,8 б
F1 Лист	17,7 а	44,2 б

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (а), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

Таким образом, можно сделать вывод, что использование в качестве экспланта завязи во время цветения не повышает частоту эмбриогенеза по сравнению с использованием завязи за 1 сутки до цветения. Однако использование завязи во время цветения может повысить частоту индукции гиногенеза у низкоотзывчивых генотипов.

Согласно данным Gémes-Juhász с соавторами (2002), наиболее подходящей стадией развития экспланта для инокулирования на питательную среду является завязь за 6 ч до открытия цветка. Li J. с соавторами (2013) отмечает, что наиболее высокое число эмбриоидов соответствовало стадии развития экспланта во время цветения. Сравнивая данные Gémes-Juhász (2002) со своими Li J. предполагает, что отзывчивость на разных стадиях развития экспланта может объясняться генотипической реакцией, что сходится с нашими данными.

3.1.6 Изучение влияния глутатиона на частоту индукции гиногенеза

Согласно данным таблицы 7 частота эмбриогенеза достоверно различается при культивировании на питательной среде, дополненной 10 мг/л глутатиона и без добавления глутатиона у 3 образцов из 6.

Таблица 7 – Влияние глутатиона в концентрации 10 мг/л на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Образец	Без добавления глутатиона	Глутатион, 10 мг/л
F1 Спринт	14,8 a	26,0 b
F1 Дружный	22,5 a	33,0 a
F1 Добрыня	32,5 a	34,3 a
№ 13	21,8 a	54,7 b
№ 21	10,9 a	31,4 b
№ 26	31,1 a	49,6 a

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (a), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

Так, гибридная комбинация № 13 в среднем сформировала 54,7 эмбрионов на завязь на питательной среде, дополненной 10 мг/л глутатиона и 21,8 шт./завязь на питательной среде без глутатиона (рис. 12А, 12Б).

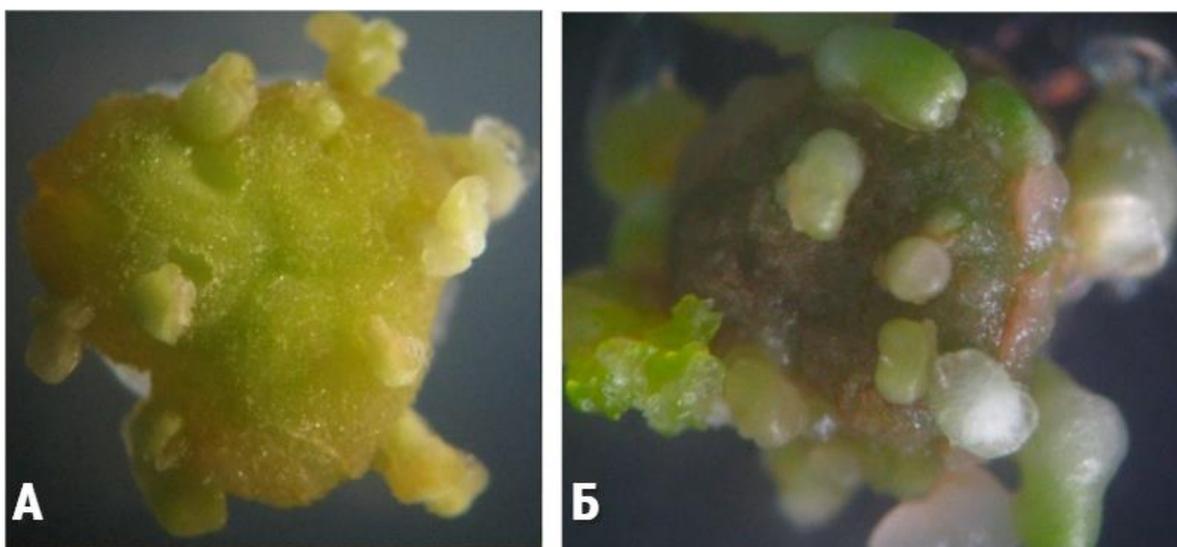


Рисунок 12 – Эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде MS (образец № 13): А) без добавления глутатиона; Б) с добавлением 10 мг/л глутатиона

Гибридная комбинация № 21 на питательной среде с глутатионом сформировала 31,4 шт./завязь, на питательной среде без глутатиона – 10,9

шт./завязь семязачатков соответственно. Наблюдали тенденцию к увеличению частоты образования эмбриоидов у 3 образцов из 6 (F1 Дружный, F1 Добрыня, № 26).

Окислительный стресс – один из возможных ограничивающих факторов, влияющих на регенерацию в культуре клеток и тканей. Возникает в результате повреждения клеток активными формами кислорода. Для уменьшения негативного воздействия свободных радикалов и стресса, вызванного неблагоприятными абиотическими условиями, могут быть использованы антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота, глутатион, мелатонин и другие. Глутатион представляет собой один из наиболее распространенных антиоксидантов и способен оказывать влияние на активность ферментов, которые участвуют в метилировании ДНК. Кроме того, он способствует увеличению частоты эмбриогенеза и ускоряет процесс регенерации.

Согласно исследованиям Żur (2019) и Zieliński и соавторов (2020), добавление глутатиона в питательную среду значительно повысило частоту эмбриогенеза у ржи и тритикале. Аналогично, работа Zeng A. с соавторами (2017) продемонстрировала заметное увеличение частоты формирования эмбриоидов у брокколи при использовании питательной среды с добавлением 20 мг/л глутатиона.

В нашем исследовании отмечено повышение частоты эмбриогенеза в культуре фрагментов завязи огурца у 3 из 6 изученных образцов в 1,5-2 раза при добавлении в индукционную питательную среду 10 мг/л глутатиона.

3.1.7 Изучение влияния сочетания регуляторов роста TDZ и 2,4-D на частоту индукции гиногенеза

Сочетание регуляторов роста 0,04 мг/л TDZ и 0,15 мг/л 2,4-D оказывают существенное влияние на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца у 2 образцов из 6 по сравнению с питательной средой, дополненной только 0,04 мг/л TDZ (№ 13, № 26) (табл. 8).

Таблица 8 – Влияние совместного действия регуляторов роста TDZ 0,04 мг/л и 2,4-D 0,15 мг/л на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Образец	0,04 мг/л TDZ	TDZ 0,04 мг/л и 2,4-D 0,15 мг/л
F1 Спринт	14,8 а	33,0 а
F1 Дружный	22,5 а	22,1 а
F1 Добрыня	32,5 а	16,8 а
№ 13	21,8 а	44,1 b
№ 21	10,9 а	15,8 а
№ 26	31,1 а	54,6 b

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (а), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

У 2 из 6 образцов, F1 Спринт и № 21, отмечена несущественная тенденция к увеличению среднего числа сформированных эмбриоидов на индукционной питательной среде, дополненной 0,04 мг/л TDZ и 0,15 мг/л 2,4-D, по сравнению с питательной средой, дополненной только 0,04 мг/л TDZ (рис. 13А, 13Б).

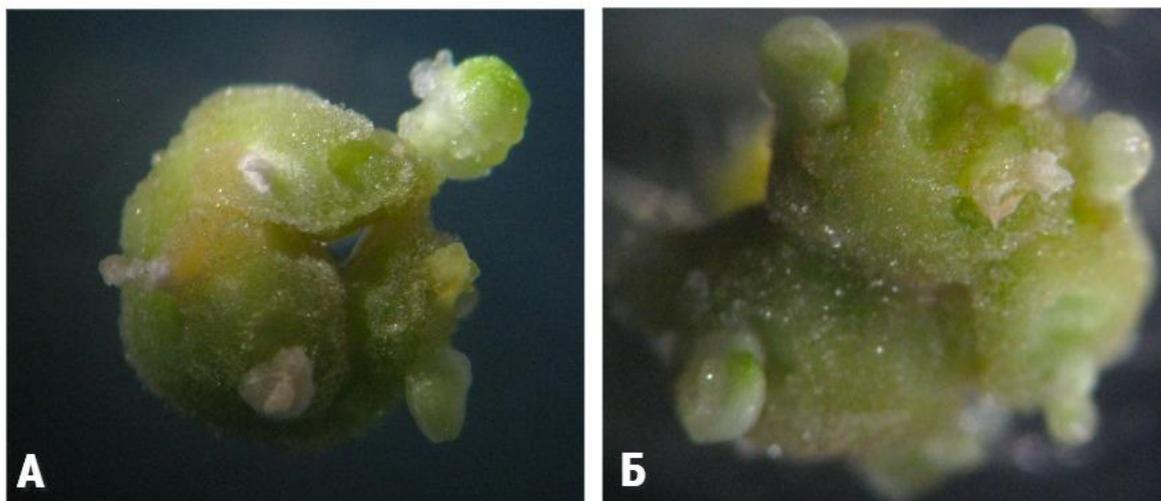


Рисунок 13 – Эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде MS (образец № 21): А) с добавлением 0,04 мг/л TDZ; Б) с добавлением 0,04 мг/л TDZ, 0,15 мг/л 2,4-D

Образцы F1 Добрыня и F1 Дружный не показали значимого изменения частоты эмбриогенеза при культивировании на индукционной питательной среде с добавлением регуляторов роста TDZ и 2,4-D.

Регуляторы роста, входящие в состав питательных сред, играют ключевую роль в эффективности технологии создания удвоенных гаплоидов. В процессе индукции гиногенеза у огурца чаще всего используется тидиазурон (TDZ) в различных концентрациях (Li J. W. et al., 2013, Домблдес Е. А. и др., 2019, Deng Y. et al., 2020). Некоторые исследователи отмечают, что сочетание ауксинов и цитокининов в различных пропорциях способствует увеличению частоты эмбриогенеза в культуре семязачтков в составе фрагментов завязей огурца. Например, согласно данным Tantasawat P. А. с соавторами (2015), наивысшая частота эмбриогенеза была достигнута при использовании индукционной питательной среды с добавлением 1 мг/л TDZ и 1 мг/л 6-BAР. Исследователи Golabadi M. и соавторы (2017) также отметили, что добавление 1,5 мг/л 2,4-D и 1 мг/л кинетина в индукционную питательную среду приводит к повышению частоты эмбриогенеза. В работе Vaktemur G. с соавторами (2022) подчеркивается, что комбинирование регуляторов роста, таких как кинетин (1,5 мг/л) и 2,4-D (0,15 мг/л), значительно увеличивает частоту формирования эмбриоидов и проростков в культуре семязачтков в составе фрагментов завязей огурца.

В результате нашего исследования было отмечено, что сочетание регуляторов роста 0,04 мг/л TDZ и 0,15 мг/л 2,4-D в индукционной питательной среде повышает частоту гиногенной индукции у 2 образцов из 6 в 1,5-2 раза, 4 из 6 образцов не имели существенной реакции на данный фактор.

3.1.8 Изучение влияния путресцина на частоту индукции гиногенеза

При культивировании поперечных семязачтков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде, дополненной 0,5 мг/л путресцина и без него, частота эмбриогенеза достоверно различается (табл. 9).

Таблица 9 – Влияние путресцина в концентрации 0,5 мг/л на частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца, шт./завязь

Образец	Без добавления путресцина	Путресцин, 0,5 мг/л
F1 Спринт	14,8 a	0 b
F1 Дружный	22,5 a	2,7 b
F1 Добрыня	32,5 a	0 b
№ 13	21,8 a	7,25 b
№ 21	10,9 a	3,4 b
№ 26	31,1 a	5,8 b

Примечание: значения в строке, отмеченные одинаковыми строчными буквами (a), согласно с U-критерием Манна-Уитни не имеют существенного различия на 5 % уровне значимости ($P \leq 0.05$).

Наблюдали статистически значимое снижение числа сформированных эмбриоидов при культивировании эксплантов на питательной среде, дополненной путресцином у всех образцов. Гибриды F1 Спринт и F1 Добрыня не формировали гиногенно развивающихся семязачатков на питательной среде с добавлением путресцина. Диски завязей не формировали каллус на поверхности среза, изменяли цвет с зеленого на бледно-желтый (рис. 14А, 14Б).

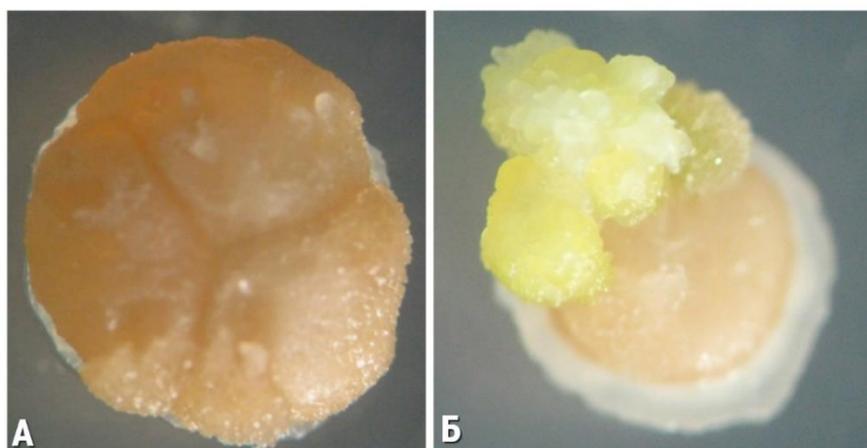


Рисунок 14 – Эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца на индукционной питательной среде MS, дополненной 0,5 мг/л путресцина: А) образец № 13; Б) образец F1 Спринт

Через 2 месяца культивирования эксплантов на питательной среде наблюдали некроз тканей.

Полиамины играют важную роль во множестве клеточных процессов, включая клеточное деление, синтез белков, репликацию ДНК, реагирование на абиотический стресс, а также регуляцию ризогенеза и эмбриогенеза. Полиамины действуют как ингибиторы синтеза этилена. В исследованиях, направленных на создание удвоенных гаплоидов у огурца, для снижения скорости синтеза этилена состав индукционной питательной среды часто дополняют нитрат серебра (AgNO_3) в концентрациях 5-10 мг/л.

Thiruvengadam M. с соавторами (2013) отметили увеличение частоты соматического эмбриогенеза у *Momordica dioica Roxb. ex. Willd* при добавлении в питательную среду 0,5 μM путресцина. Комбинирование различных регуляторов роста с полиаминами, такими как спермидин, спермин и путресцин, в разных концентрациях также продемонстрировало положительное влияние на регенерацию *Cucumis anguria L.* В исследовании Erol M. H. (2019) изучалось влияние спермидина и путресцина на частоту эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков огурца. Использовались концентрации 40, 80, 120, 160 и 200 μM , а также сочетания полиаминов в соотношении 1:1. Частота образования эмбриоидов сильно варьировала в зависимости от исследуемого образца.

В нашем исследовании было показано, что добавление 0,5 мг/л путресцина в индукционную питательную среду приводит к значительному снижению частоты эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца. Отдельные образцы не продемонстрировали признаки формирования эмбриоидов. Это может свидетельствовать о том, что сочетание путресцина с нитратом серебра (AgNO_3), выступающих в качестве ингибитора этилена, имеет мощный ингибирующий эффект на эмбриогенез в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца.

3.2 Оценка проявления женского типа цветения и других экономически ценных признаков

3.2.1 Оценка аллельного состояния гена *F* материнских линий партенокарпического огурца

Для оценки гиноцидных линий партенокарпического огурца на проявление женского пола изучали гибридные комбинации, полученные от скрещивания материнских линий с моноцидными формами - линией Феникс1 и линией РубМ (табл. 10). По степени выраженности женского пола в гибридных комбинациях можно сделать вывод об аллельном состоянии гена *F*. Согласно исследованиям Пыженкова В.И. (1981) при скрещивании генотипов, обладающих сильными аллелями гена *F*, с моноцидными формами в потомстве наблюдают растения, обладающие женским типом цветения. Предположение Пыженкова В.И. о 4 аллелях гена *F*, различающихся по силе выраженности женского пола в комбинации с геном *M*, могут объяснить серию переходных форм у огурца от моноцидных до форм с 100 %-ым женским типом цветения.

При скрещивании материнских линий D18, Sv3506, Бк1-8, Z1(II)бн2-1, M43, Сф1, Пас2-1111(18)18, Z1(II)6, В1(II)1, Пасхц)3х1)05, Sa2-81, S20(II)42, Зел1-64, Км1, Пасхц)3х4)06(15) с моноцидной формой, гибридные комбинации, выращенные в защищенном грунте, проявили промежуточный тип цветения. Формы с промежуточным типом цветения представляют собой растения с несколькими мужскими узлами в нижней части центрального побега и последующими узлами с женскими цветками. Среднее число нижних узлов с мужскими цветками у исследованных гибридных комбинаций, полученных при скрещивании с линией Феникс1, варьировало от 1,25 до 4,40 шт./раст. при выращивании в защищенном грунте (табл. 8). Согласно исследованиям Пыженкова В.И. (1981), промежуточный тип цветения характерен для гетерозигот *Ff*. Гетерозиготное состояние аллелей *Ff* в зависимости от сопутствующих генетических факторов и условий внешней среды в своем фенотипическом выражении может иметь только женские цветки во всех узлах и/или комбинации мужских цветков в первых узлах и женских в последующих.

При выращивании гибридных потомств в открытом грунте отмечали тенденцию к снижению числа узлов с мужскими цветками на растениях. Так, например, у гибридной комбинации Z1(II)6 x Феникс1 в защищенном грунте среднее число узлов с мужскими цветками составляло 2,88 шт./раст., а при выращивании в открытом грунте – 0,13 шт./раст. Открытый грунт являлся средой, способствующей усилению проявления женского пола, т.к. в период с третьей декады июля по третью декаду августа 2023 года среднесуточные температуры варьировались от 17,6 до 23 °С с низкими ночными температурами (14,6 °С). Согласно многочисленным исследованиям, пониженные температуры способствуют формированию женских цветков.

Таким образом, можно заключить, что линии D18, Sv3506, Бк1-8, Z1(II)бн2-1, М43, Сф1, Пас2-1111(18)18, Z1(II)6, В1(II)1, Пасхц)3х1)05, Sa2-81, S20(II)42, Зел1-64, Км1, Пасхц)3х4)06(15) являются доминантными гомозиготами по гену *F* (табл. 10). При этом условия открытого грунта не подходят для определения выраженности женского пола, т.к. низкие ночные температуры будут способствовать усилению выраженности женского пола в отличие от условий защищенного грунта с более высокими среднесуточными положительными температурами. Таким образом, идентификация гетерозигот по гену *F* является наиболее сложной, так как в зависимости от условий выращивания степень проявления пола может сильно различаться.

Гиноцийные материнские линии скрещивали с моноцийными образцами Феникс1 и РубМ. Моноцийная линия РубМ обладает более слабой выраженностью мужского пола по сравнению с линией Феникс1. Таким образом, при скрещивании одних и тех же материнских линий с линией РубМ ожидалось усиление выраженности женского пола. Однако у части гибридных потомств (Z1(II)6 x РубМ, Пасхц)3х1)05 x РубМ, Пасхц)3х4)06(15) x РубМ) отмечали снижение числа узлов с женскими цветками при использовании в качестве отцовского компонента РубМ по сравнению с потомствами при скрещивании с линией Феникс1 (табл. 10).

Таблица 10 – Характеристика гибридных потомств огурца по степени выраженности пола

Гибридная комбинация	Среднее число узлов с мужскими цветками, шт./раст.		Аллельное состояние гена <i>F</i> материнских линий
	Защищенный грунт	Открытый грунт	
Мадр1-639 х Феникс1	0,38	0,22	<i>F'F'/F''F''</i>
Руб6 х Феникс1	0,88	0,27	<i>F'F'/F''F''</i>
S20-1(II)бн х Феникс1	1,17	0,08	<i>F'F'/F''F''</i>
Кибр2-6 х Феникс1	1,25	0,5	<i>F'F'/F''F''</i>
D18 х Феникс1	1,25	0,43	<i>FF</i>
Sv3506 х Феникс1	1,5	0,08	<i>FF</i>
Руб3 х Феникс1	1,75	0,13	<i>F'F'/F''F''</i>
M43 х Феникс1	2,13	0,2	<i>FF</i>
Z1(II)бн2-1 х Феникс1	2,2	0,23	<i>FF</i>
Бейок1-8 х Феникс1	2,33	0,33	<i>FF</i>
Пасхц)3х1)05 х Феникс1	2,5	0,08	<i>FF</i>
264(13) х Феникс1	2,57	4,42	<i>Ff</i>
Z1(II)6 х Феникс1	2,88	0,13	<i>FF</i>
Зел1-64 х Феникс1	3	0,33	<i>FF</i>
Сф1 х Феникс1	3,17	0,43	<i>FF</i>
Пасхц)3х4)06(15) х Феникс1	4,4	0,64	<i>FF</i>
LS24-13 х Феникс1	8,43	7,33	<i>Ff</i>
Пв2-151 х Феникс1	13,71	9,33	<i>Ff</i>
Феникс1	17,38	9,63	<i>ff</i>
НСР ₀₅	5,45	2,51	
Кибр2-6 х РубМ	0,38	0,22	<i>F'F'/F''F''</i>
B1(II)1 х РубМ	1,14	0,31	<i>FF</i>
Sa2-81 х РубМ	1,75	1,42	<i>FF</i>
S20(II)42 х РубМ	3,67	0,5	<i>FF</i>
Сф1 х РубМ	4,5	0,33	<i>FF</i>
Км1 х РубМ	4,67	1,83	<i>FF</i>
Z1(II)6 х РубМ	4,75	0	<i>FF</i>
Пасхц)3х1)05 х РубМ	7	2,36	<i>FF</i>
Пас2-1111(18)18 х РубМ	7,13	2	<i>FF</i>
Пасхц)3х4)06(15) х РубМ	8,5	4,15	<i>FF</i>
РубМ	14,6	8,72	<i>ff</i>
НСР ₀₅	4,56	2,34	

Так, например, при скрещивании гиноцийной линии Пасхиц)3х4)06(15) с линией Феникс1 среднее число узлов с мужскими цветками в защищенном грунте составило 4,40 шт./раст., при скрещивании с моноцийной формой РубМ – 8,50 шт./раст. Усиление выраженности мужского пола при скрещивании гиноцийных линий с моноцийной линией РубМ может объясняться генами-модификаторами отцовского компонента.

Материнские линии Пв2-151, LS24-13, 264(13) согласно табличным данным (табл. 10) являются гетерозиготами Ff . При скрещивании данных линий (Ff) с моноцийным растением линии Феникс1 (ff) отмечено расщепление 1:1. При выращивании гибридных комбинаций в защищенном грунте половина растений обладала мужским типом цветения, половина – промежуточным. В условиях открытого грунта 4 из 8 растений каждой повторности обладали женским типом цветения, что объясняется низкими ночными температурами, стимулирующими формирование узлов с женскими цветками. Разделение растений в потомстве не изменялось в зависимости от условий выращивания в открытом и защищенном грунте. Среднее число узлов с мужскими цветками у данных гибридных потомств было самым высоким и варьировалось от 2,57 до 13,71 шт./раст. при выращивании в защищенном грунте и от 4,42 до 9,33 шт./раст. при выращивании в открытом грунте.

Материнские линии Руб6, S20-1(II)бн, Кибр2-6, Руб3, Мадр1-639 предположительно могут являться гомозиготами с сильными аллелями $F'F'$ или $F''F''$. При скрещивании этих линий с моноцийной линией Феникс1 было отмечено, что большая часть растений не формировала мужские цветки, а остальные растения имели единичные мужские цветки при выращивании в защищенном грунте. При выращивании этих гибридных потомств в открытом грунте доля растений с женским типом цветения была больше. Наличие единичных мужских цветков у растений можно объяснить действием полигенов, а также условиями выращивания. Однако среднее число узлов с мужскими цветками у данных гибридных потомств статистически достоверно не отличается от

гибридных потомств, предположительно являющихся гомозиготами по гену F (FF), $НСР_{05} = 5,45$.

Аллели F' и F'' невозможно различить по фенотипу при скрещивании с рецессивной гомозиготой ff . По результатам исследований Пыженкова (1981) при скрещивании доминантных дигомозигот по гену F и M ($F'F'MM$, $F''F''MM$) с рецессивной гомозиготой по гену F и доминантной гомозиготой по гену M ($ffMM$) наблюдали единообразие первого поколения по признаку 100 %-ный женский тип цветения. Различия между аллелями F' и F'' наблюдали при сочетании с рецессивной гомозиготой по гену M , определяющей формирование гермафродитных цветков. Однако для двухлинейной схемы создания F1-гибридов огурца при скрещивании гиноцидной и моноцидной родительских линий в равной степени подходят доминантные гомозиготы $F'F'$ и $F''F''$.

Таким образом, были выявлены перспективные для дальнейшей работы следующие линии, обладающие сильными аллелями гена F : Рубб, S20-1(II)бн, Кибр2-6, Руб3, Мадр1-639. Данные линии рекомендуются для использования в двухлинейной схеме создания F1-гибридов партенокарпического огурца в качестве материнского компонента.

3.2.2 Оценка хозяйственно-ценных признаков гибридных комбинаций и ОКС линий в условиях защищенного грунта

Оценка хозяйственно-ценных признаков. Основные хозяйственно-ценные признаки изучаемых гибридных комбинаций оценивали в условиях защищенного грунта (таблица 11, 12). Изучали проявление признаков: общая продуктивность, масса плода, число плодов, число побегов 1-го порядка ветвления.

Сбор зеленцов проводили 2 раза в неделю. Проводили сбор плодов длиной 9-11 см. В качестве стандарта использовали линию Феникс1, гибриды F1 Спринт, F1 Хоббит. Общая продуктивность – урожай плодов с одного растения, один из важнейших хозяйственно-ценных признаков огурца.

Таблица 11 – Проявление хозяйственно-ценных признаков гибридных комбинаций партенокарпического огурца, полученных при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1 (2023 г.)

№	Наименование гибридной комбинации	Продуктивность, г	Число побегов 1-го порядка ветвления, шт.	Масса плода, г	Число плодов, шт.
1	Мадр1-639 х Феникс1	651	4,0	74,4	8,8
2	Руб6 х Феникс1	1490	11,2	81,6	18,3
3	S20-1(II)бн х Феникс1	781	20,5	80,7	9,7
4	Кибр2-6 х Феникс1	1241	21,1	84,8	14,6
5	D18 х Феникс1	724	2,5	60,3	12,0
6	Sv3506 х Феникс1	1089	11,9	85,4	12,8
7	Руб3 х Феникс1	1337	7,0	76,0	17,6
8	M43 х Феникс1	808	6,25	80,8	10,0
9	Z1(II)бн2-1 х Феникс1	920	12,7	98,5	9,3
10	Бейок1-8 х Феникс1	667	15,5	75,5	8,8
11	Пасхц)3х1)05 х Феникс1	1120	18,3	81,9	13,7
12	264(13) х Феникс1	440	9,9	62,9	7,0
13	Z1(II)6 х Феникс1	949	15,3	88,3	10,8
14	Зел1-64 х Феникс1	812	4,9	68,4	11,9
15	Сф1 х Феникс1	1087	14,8	79,5	13,7
16	Пасхц)3х4)06(15) х Феникс1	650	8,7	79,6	8,2
17	LS24-13 х Феникс1	673	10,8	85,4	7,9
18	Пв2-151 х Феникс1	358	27,1	65,9	5,4
19	F1 Спринт	295	0,7	63,3	4,7
20	F1 Хоббит	1266	2,4	72,8	16,9
	НСР ₀₅	198,9	10,6	46,6	8,4

По данным дисперсионного анализа изучаемые гибридные комбинации, полученные при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, существенно различались по урожаю зеленцов с одного растения.

Продуктивность варьировала от 0,36 (Пв2-151 x Феникс1) до 1,49 кг/раст. (Рубб x Феникс1). Средняя продуктивность стандарта F1 гибрида Хоббит составила 1,27 кг/раст. Выявлена 1 гибридная комбинация (Рубб x Феникс1) достоверно превышающая по признаку продуктивность лучший стандарт гибрид F1 Хоббит. Продуктивность данной гибридной комбинации составила 1,49 кг/раст.

Число побегов 1-го порядка ветвления – один из хозяйственно-ценных признаков, обеспечивающих высокую урожайность F1-гибридов огурца, тесно коррелирует с продуктивностью (Cramer, Wehner, 2000; Монахос Г. Ф., 2013). Данный признак особенно важен при селекции F1-гибридов огурца для открытого грунта. По данному признаку гибридные комбинации существенно различались на 5 %-ном уровне значимости. Число боковых побегов в среднем варьировало от 2,5 (D18 x Феникс1) до 27,1 шт./раст. (Пв2-151 x Феникс1). Выявлено, что 8 гибридных комбинаций превосходили стандарты F1 Спринт и F1 Хоббит на 5 %-ном уровне значимости.

Согласно данным дисперсионного анализа гибридные комбинации не различались по признаку масса плода. Масса плода варьировала от 98,5 (Z1(II)бн2-1 x Феникс1) до 60,3 г (D18 x Феникс1). Масса плода у стандарта F1 Хоббит 72,8 г.

Число плодов – один из важных хозяйственно-ценных признаков, учитываемых при создании F1-гибридов огурца с высокой продуктивностью. По данным дисперсионного анализа гибридные комбинации существенно различались по числу плодов. Число плодов в среднем варьировало от 18,3 (Рубб x Феникс1) до 5,4 (Пв2-151 x Феникс1) шт./раст. Среди стандартов наиболее высокое число плодов наблюдали у гибрида F1 Хоббит (16,9 шт./раст.). Отмечено, что 6 гибридных комбинаций (Рубб x Феникс1, Руб3 x Феникс1, Кибр2-6 x Феникс1, Пасхц)3х1)05 x Феникс1, Сф1 x Феникс1, Sv3506 x Феникс1) существенно превзошли по признаку число плодов стандарт F1 Спринт (4,7 шт./раст.).

Установлено, что ни одна из гибридных комбинаций существенно не превзошла стандарт F1 Хоббит.

Таблица 12 – Проявление хозяйственно-ценных признаков гибридных комбинаций партенокарпического огурца, полученных при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ (2023 г.)

№	Наименование гибридной комбинации	Продуктивность, г	Количество побегов 1-го порядка ветвления	Масса плода, г	Число плодов, шт.
1	Кибр2-6 х РубМ	663	0,4	65,5	10,1
2	Z1(II)бн2-1 х РубМ	1351	2,7	79,5	17,0
3	Сф1 х РубМ	1500	2,6	76,4	19,6
4	Пас2 - 1111(18)18 х РубМ	1452	2,4	72,6	20,0
5	Z1(II)б х РубМ	1451	0,25	80,6	18,0
6	B1(II)1 х РубМ	1390	14	89,2	15,6
7	Пасхц)3х1)05 х РубМ	1955	3,2	72,9	26,8
8	Sa2-81 х РубМ	1057	1	66,6	15,9
9	S20(II)42 х РубМ	1187	2,9	76,9	15,4
10	Км1 х РубМ	358	0,3	66,6	4,4
11	Пасхц)3х4)06) 15 х РубМ	1018	6,3	80,1	12,7
12	РубМ	952	3,7	70,2	11
13	F1 Хоббит	1266	2,4	72,8	16,9
	НСР ₀₅	224,0	4,8	32,8	9,2

По данным дисперсионного анализа гибридные комбинации, полученные в результате скрещивания в системе топкросс с отцовским компонентом линией РубМ, существенно различались по признаку общая продуктивность. Общая продуктивность варьировала от 0,35 (Км1 х РубМ) до 1,96 кг/раст. (Пасхц)3х1)05 х

РубМ). В качестве стандарта использовали гибрид F1 Хоббит, продуктивность которого составила 1,27 кг/раст. Отмечено, что 5 гибридных комбинаций (Пасхц)3х1)05 х РубМ, Сф1 х РубМ, Пас2-1111(18)18 х РубМ, Z1(II)6 х РубМ, В1(II)1 х РубМ) существенно превосходили по продуктивности стандарт F1 Хоббит.

Согласно данным дисперсионного анализа изучаемые гибридные комбинации существенно различались по признаку число побегов 1-го порядка ветвления. Наибольшее число боковых побегов отметили у гибридной комбинации В1(II)1 х РубМ (14 шт./раст.), наименьшее – у гибридной комбинации Z1(II)6 х РубМ (0,25 шт./раст.). Отмечено, что 1 гибридная комбинация (В1(II)1 х РубМ) превзошла стандарт по числу боковых побегов на 5 %-ном уровне значимости (14 шт./раст.).

Анализ дисперсий гибридных комбинаций по признаку масса плода показал, что нет достоверных различий между генотипами. Масса плода варьировалась от 65,5 (Кибр2-6 х РубМ) до 89,2 г (В1(II)1 х РубМ). Ни одна из гибридных комбинаций существенно не превзошла стандарт F1 Хоббит по признаку масса плода (72,8 г).

По признаку число плодов гибридные комбинации существенно различались на 5 %-ном уровне значимости. Число плодов варьировало от 4,4 (Км1 х РубМ) до 26,8 шт./раст. (Пасхц)3х1)05 х РубМ). Выявлена 1 гибридная комбинация (Пасхц)3х1)05 х РубМ), достоверно превышающая стандарт гибрид F1 Хоббит по признаку число плодов.

Оценка комбинационной способности линий огурца. Комбинационную способность материнских линий огурца изучали по основным признакам: продуктивность, масса плода, число плодов, число побегов 1-го порядка ветвления (табл. 13-20).

Оценка эффектов ОКС материнских форм по признаку продуктивность при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом, линией Феникс1, показала, что они сильно варьировали от -520 (линия Пв2-151) до 612 (линия Рубб) (табл. 13). Высоким положительным эффектом ОКС обладали 6 из 18 линий (30%), максимальными значениями эффектов ОКС обладали линии Рубб, Руб3 – 612 г. и

460 г., соответственно. Низкими и отрицательными эффектами ОКС по признаку продуктивность обладали 2 из 18 линий (264(13), Пв2-151).

Таблица 13 – ОКС по признаку продуктивность при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, г., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Руб6	612	высокая
2	Руб3	460	высокая
3	Кибр2-6	363	высокий
4	Пасхц)3х1)05	242	высокий
5	Sv3506	212	высокий
6	Сф1	210	высокий
7	Z1(II)6	72	средний
8	Z1(II)бн2-1	42	средний
9	Зел1-64	-66	средний
10	M43	-70	средний
11	S20-1(II)бн	-97	средний
12	D18	-153	средний
13	LS24-13	-205	средний
14	Бейок1-8	-210	средний
15	Мадр1-639	-226	средний
16	Пасхц)3х4)06(15)	-227	средний
17	264(13)	-437	низкий
18	Пв2-151	-520	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 176,8 г.

В результате оценки эффектов ОКС по признаку продуктивность линий при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ отмечено, что эффекты ОКС сильно варьировали от -851 (линия Км1) до 738 (линия Пасхц)3х1)05) (таблица 14). Среди материнских линий высоким положительным

ОКС обладала линия Пасхц)3х1)05, низким отрицательным ОКС обладали линии Км1, Кибр2-6 (-553 и -859 соответственно).

Таблица 14 – ОКС по признаку продуктивность при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ, г., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Пасхц)3х1)05	738	высокий
2	Сф1	284	средний
3	Пас2 -1111(18)18	235	средний
4	Z1(II)6	234	средний
5	B1(II)1	173	средний
6	Z1(II)бн2-1	134	средний
7	S20(II)42	-29	средний
8	Sa2-81	-160	средний
9	Пасхц)3х4)06(15)	-198	средний
10	Кибр2-6	-553	низкий
11	Км1	-859	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 163,6 г.

Изучение эффектов ОКС по признаку масса плода при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1 показало, что эффекты ОКС варьировали от -16,8 (линия D18) до 21,4 (линия Z1(II)бн2-1) (табл. 15). Высоким положительным эффектом ОКС обладала линия Z1(II)бн2-1 (21,4 г), низким отрицательным эффектом ОКС обладали 4 линии из 18 (Зел1-64, Пв2-151, D18, 264(13)).

Таблица 15 – ОКС по признаку масса плода при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, г., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Z1(II)бн2-1	21,4	высокий
2	Z1(II)6	11,2	средний
3	Sv3506	8,3	средний

4	LS24-13	8,3	средний
5	Кибр2-6	7,7	средний
6	Пасхц)3х1)05	4,8	средний
7	Руб6	4,5	средний
8	М43	3,7	средний
9	S20-1(II)бн	3,6	средний
10	Пасхц)3х4)06(15)	2,5	средний
11	Сф1	2,4	средний
12	Руб3	-1,1	средний
13	Бейок1-8	-1,6	средний
14	Мадр1-639	-2,7	средний
15	Зел1-64	-8,7	низкий
16	Пв2-151	-11,2	низкий
17	264(13)	-14,2	низкий
18	D18	-16,8	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 4,8 г.

Оценка эффектов ОКС по признаку масса плода при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ показывает, что ОКС варьирует от -9,7 (линия Кибр2-6) до 14 (линия В1(II)1) (табл. 16). Высокие положительные эффекты ОКС были отмечены у линии В1(II)1 – 14 г. Низким отрицательным эффектом ОКС обладали 3 линии из 11 (Са2-81, Км1, Кибр2-6).

Таблица 16 – ОКС по признаку масса плода при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ, г., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	В1(II)1	14,0	высокий
2	Z1(II)6	5,4	средний
3	Пасхц)3х4)06)15	4,9	средний
4	Z1(II)бн2-1	4,3	средний
5	S20(II)42	1,7	средний

6	Сф1	1,2	средний
7	Пасхц)3х1)05	-2,3	средний
8	Пас2 -1111(18)18	-2,6	средний
9	Sa2-81	-8,6	низкий
10	Км1	-8,6	низкий
11	Кибр2-6	-9,7	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 3,7 г.

При анализе эффектов ОКС материнских линий при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1 по признаку число плодов отмечено, что ОКС варьировала от -1,4 у линии S20-1(II)бн до 7,2 у линии Руб6 (табл. 17). Выделены 2 линии из 18, обладающие высокими положительными эффектами ОКС: Руб6, Руб3 (7,2 и 6,5 шт. соответственно). Низкими отрицательными эффектами ОКС обладали 2 линии 264(13), Пв2-151.

Таблица 17 – ОКС по признаку число плодов при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, шт., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Руб6	7,2	высокий
2	Руб3	6,5	высокий
3	Кибр2-6	3,5	средний
4	Пасхц)3х1)05	2,6	средний
5	Сф1	2,6	средний
6	Sv3506	1,7	средний
7	D18	0,9	средний
8	Зел1-64	0,8	средний
9	Z1(II)6	-0,3	средний
10	M43	-1,1	средний
11	S20-1(II)бн	-1,4	средний
12	Z1(II)бн2-1	-1,8	средний

13	Мадр1-639	-2,3	средний
14	Бейок1-8	-2,3	средний
15	Пасхц)3х4)06(15)	-2,9	средний
16	LS24-13	-3,2	средний
17	264(13)	-4,1	низкий
18	Пв2-151	-5,7	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 1,6 шт.

Согласно оценке эффектов ОКС по признаку число плодов при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ показано, что эффекты ОКС варьировали от -11,6 у линии Км1 до 10,8 у линии Пасхц)3х1)05 (табл. 18). Высокие положительные эффекты ОКС были выявлены у линии Пасхц)3х1)05 – 10,8 шт. Низкими отрицательными эффектами обладали линии Кибр2-6, Км1 (-5,9 и 11,6 шт. соответственно).

Таблица 18 – ОКС по признаку число плодов при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ, шт., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Пасхц)3х1)05	10,8	высокий
2	Пас2 -1111(18)18	4,0	средний
3	Сф1	3,6	средний
4	Z1(II)6	2,0	средний
5	Z1(II)бн2-1	1,0	средний
6	Sa2-81	-0,1	средний
7	B1(II)1	-0,4	средний
8	S20(II)42	-0,6	средний
9	Пасхц)3х4)06)15	-3,3	средний
10	Кибр2-6	-5,9	низкий
11	Км1	-11,6	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 1,8 шт.

При анализе эффектов ОКС материнских линий при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом сор Феникс1 по признаку число побегов 1-го порядка ветвления выявлено, что эффекты ОКС сильно варьировались от -9,9 (линия D18) до 14,7 (линия Пв2-151) (табл. 19). Высокими положительными эффектами ОКС обладали линии Пв2-151, Кибр2-6, S20-1(II)бн (14,7, 8,7 и 8,1 шт. соответственно). Низкими отрицательными эффектами обладали линии Зел1-64, Мадр1-639, D18 (-7,5, -8,4 и -9,9 шт. соответственно).

Таблица 19 – ОКС по признаку число побегов 1-го порядка ветвления при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, шт., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	Пв2-151	14,7	высокий
2	Кибр2-6	8,7	высокий
3	S20-1(II)бн	8,1	высокий
4	Пасхц)3х1)05	5,9	средний
5	Бейок1-8	3,1	средний
6	Z1(II)б	2,9	средний
7	Сф1	2,4	средний
8	Z1(II)бн2-1	0,3	средний
9	Sv3506	-0,5	средний
10	Руб6	-1,2	средний
11	LS24-13	-1,6	средний
12	264(13)	-2,5	средний
13	Пасхц)3х4)06(15)	-3,7	средний
14	Руб3	-5,4	средний
15	M43	-6,1	средний
16	Зел1-64	-7,5	низкий
17	Мадр1-639	-8,4	низкий
18	D18	-9,9	низкий

Примечание: НСР₀₅ – 3,1 шт.

Согласно анализу эффектов ОКС по признаку число побегов при скрещивании материнских линий в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ отмечено, что эффекты ОКС варьировали от -3 (линия Z1(II)6) до 10,7 (линия B1(II)1) (табл. 20). Высокие положительные эффекты ОКС выявлены у линии B1(II)1 – 10,7 шт. Все остальные линии обладали средними положительными и отрицательными эффектами ОКС.

Таблица 20 – ОКС по признаку число побегов 1-го порядка ветвления при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом РубМ, шт., 2023 г.

№	Генотип	ОКС	Группа линий по ОКС
1	B1(II)1	10,7	высокий
2	Пасхц)3x4)06)15	3,0	средний
3	Пасхц)3x1)05	-0,1	средний
4	S20(II)42	-0,4	средний
5	Z1(II)бн2-1	-0,6	средний
6	Сф1	-0,7	средний
7	Пас2 -1111(18)18	-0,9	средний
8	Sa2-81	-2,3	средний
9	Кибр2-6	-2,9	средний
10	Км1	-3,0	средний
11	Z1(II)6	-3,0	средний

Примечание: НСР₀₅ – 2,7 шт.

Две родительские линии Рубб и Пасхц)3x1)05 лучших по совокупности проявления гиноцидности (женский тип цветения), высоких и средних эффектов ОКС по признакам, общая продуктивность, масса плодов, число плодов, имели наибольшие значения эффектов ОКС по баллу поражения ложной мучнистой росой, это позволит создать на их основе высокопродуктивные F1-гибриды, однако они не будут отличаться высокой устойчивостью к пероноспорозу. При этом необходимо отметить, что создание высокопродуктивных и высокоустойчивых к пероноспорозу F1-гибридов партенокарпического огурца

достижимо вследствие отсутствия корреляции ($r = 0,05$) между ОКС линий по признаку общая продуктивность и ОКС линий по признаку устойчивость к пероноспорозу.

В результате изучения комплекса хозяйственно-ценных признаков, определяющих продуктивность растений партенокарпического огурца, выделены 6 новых перспективных гибридных комбинаций Рубб х Феникс1, (Пасхц)3х1)05 х РубМ, Сф1 х РубМ, Пас2-1111(18)18 х РубМ, Z1(II)6 х РубМ, В1(II)1 х РубМ, рекомендованных для проведения стационарного испытания.

3.3 Оценка устойчивости к пероноспорозу и продуктивности гибридных комбинаций и ОКС линий огурца

Оценку устойчивости гибридных комбинаций производили при поражении восприимчивого стандарта F1 Хоббит на 80 % в соответствии с методиками, изложенными в главе Материалы и методы. Было отмечено, что в 2023 году в результате низких ночных температур пероноспороз развивался активно, что привело к значительному снижению продуктивности всех изучаемых гибридных комбинаций. В 2024 году в августе и сентябре сохранялась высокая среднесуточная температура, превышающая средние многолетние данные, а также низкая влажность воздуха. Погодные условия в августе-сентябре 2024 года привели к снижению активности возбудителя ложной мучнистой росы и повышению общей продуктивности.

Оценка симптомов поражения гибридных комбинаций огурца пероноспорозом на естественном инфекционном фоне (рис. 15А, 15Б, 15В) показала, что наиболее стабильно сохраняет высокую устойчивость с баллами поражения 1,8 в среднем за 2 года гибридная комбинация Бейок1-8 х Феникс1 (табл. 21). Гибридная комбинация Бейок1-8 х Феникс1 показала устойчивость на уровне F1 Спринт (1,8 балла) и более высокий уровень устойчивости по сравнению с линией Феникс1 (2,1 балла).

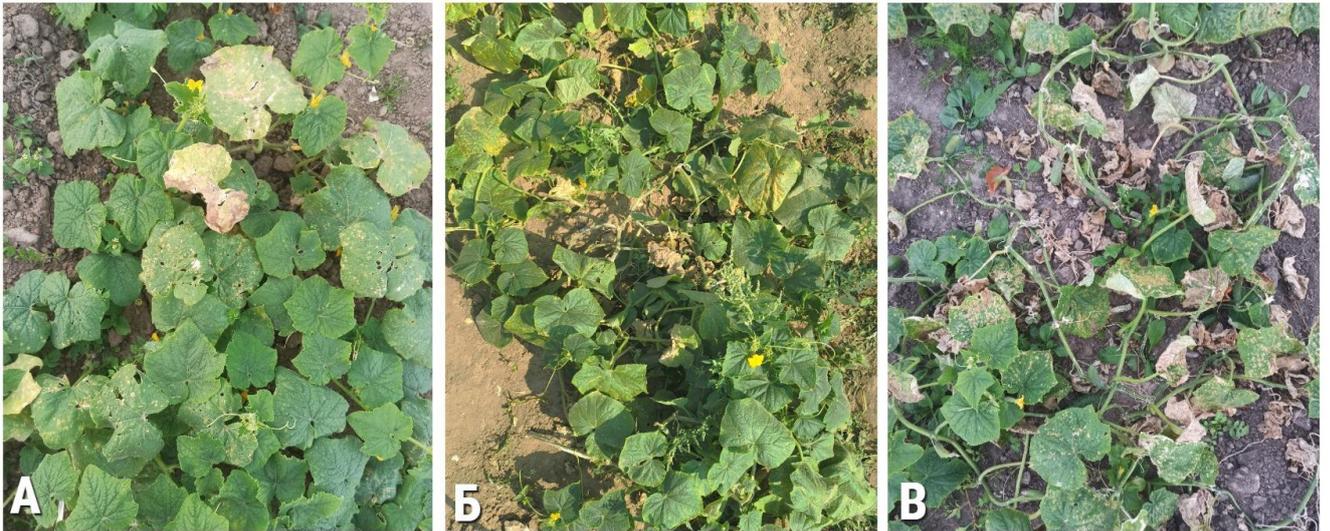


Рисунок 15 – Проявление симптомов поражения пероноспорозом образцов огурца на естественном инфекционном фоне: А) Устойчивый стандарт, линия Феникс1, Б) Устойчивая гибридная комбинация Бейок1-8 x Феникс1, В) Восприимчивый стандарт F1 Хоббит

При изучении развития возбудителя ложной мучнистой росы на листьях исследуемых гибридных комбинаций огурца было отмечено, что у устойчивого стандарта линии Феникс1 наблюдается отсутствие спороношения на нижней стороне листа, либо незначительные нераспространяющиеся очаги спороношения при сравнении с восприимчивым стандартом F1 Хоббит (рис. 16А, 16В). Отметим наличие развитых спорангиеносцев без сформированных зооспор. Такое развитие патогена на устойчивом стандарте объясняется реакцией сверхчувствительности, которая выражается в быстрой гибели клеток при поражении патогеном. Возбудитель пероноспороза является облигатным патогеном и не выживает в мертвых клетках, что приводит к снижению развития спороношения. В результате фотосинтезирующая поверхность листьев сохраняется, что приводит к сохранению продуктивности растения огурца. При изучении развития патогена на нижней стороне листовой пластинки устойчивой гибридной комбинации Бейок1-8 x Феникс1 также было отмечено явление реакции сверхчувствительности (рис. 16Б).

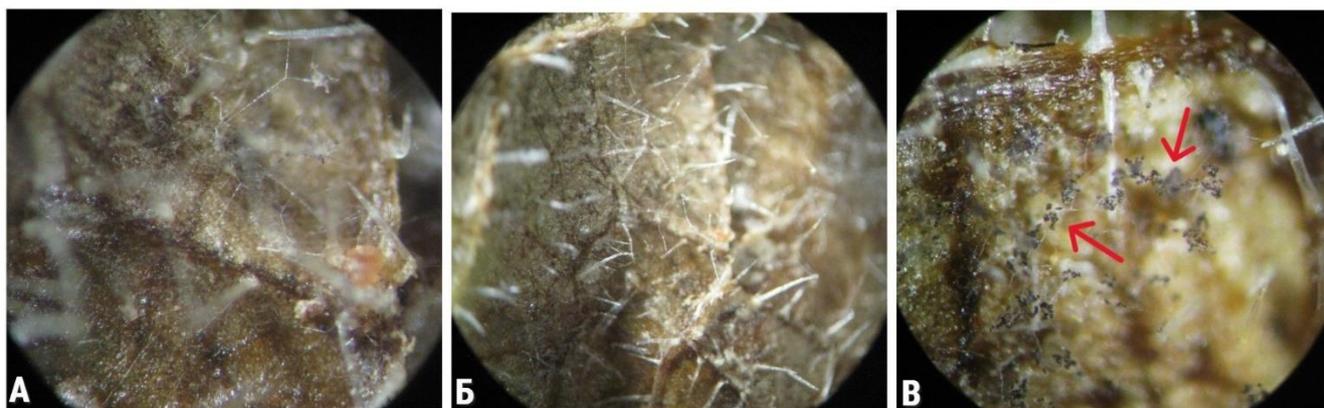


Рисунок 16 – Нижняя поверхность листьев с симптомами ложной мучнистой росы: А) Устойчивый стандарт линия Феникс1, Б) Устойчивая гибридная комбинация Бейок1-8 x Феникс1, В) Восприимчивый стандарт F1 Хоббит (стрелками отмечено спороношение возбудителя ложной мучнистой росы)

При оценке исследуемых гибридных комбинаций по устойчивости к ложной мучнистой росе к высоко устойчивым относили образцы с симптомами поражения 0 - 3 балла, к среднеустойчивым – 3 - 6 балла, и к восприимчивым - с баллом поражения 6 - 9 (табл. 21). Выделены 7 устойчивых комбинаций из 17: Пасхц)3х1)05 x Феникс1, Сф1 x Феникс1, S20-1(II)бн x Феникс1, Z1(II)бн2-1 x Феникс1, Зел1-64 x Феникс1, Z1(II)6 x Феникс1, Бейок1-8 x Феникс1.

Таблица 21 – Оценка гибридных комбинаций по устойчивости к ложной мучнистой росе, 2023-2024 гг. (открытый грунт)

№	Образец	Поражение ложной мучнистой росой, балл			Группа устойчивости
		2023 г.	2024 г.	среднее за 2 года	
1.	Мадр1-639 x Феникс1	6,6	4,3	6,0	Среднеустойчивая
2.	Руб6 x Феникс1	6,3	6,7	6,4	Восприимчивая
3.	Пасхц)3х4)06(15) x Феникс1	5,9	4,3	5,6	Среднеустойчивая
4.	Руб3 x Феникс1	5,2	3,2	4,9	Среднеустойчивая
5.	Пв2-151 x Феникс1	5	3,7	4,8	Среднеустойчивая
6.	Sv3506 x Феникс1	4,4	4,7	4,5	Среднеустойчивая
7.	LS24-13 x Феникс1	4,3	2,7	3,8	Среднеустойчивая

8.	264(13) х Феникс1	4,1	3,7	4,1	Среднеустойчивая
9.	М43 х Феникс1	3,8	5	4,1	Среднеустойчивая
10.	Кибр2-6 х Феникс1	3,8	3	3,6	Среднеустойчивая
11.	Пасхц)3х1)05 х Феникс1	3,2	1,7	2,9	Устойчивая
12.	Сф1 х Феникс1	2,7	2,7	2,7	Устойчивая
13.	S20-1(II)бн х Феникс1	2,2	2	2,1	Устойчивая
14.	Z1(II)бн2-1 х Феникс1	1,8	2,4	2,0	Устойчивая
15.	Зел1-64 х Феникс1	1,8	3	2,1	Устойчивая
16.	Z1 (II)6 х Феникс1	1,5	2,7	2,1	Устойчивая
17.	Бейок1-8 х Феникс1	1,8	1,7	1,8	Устойчивая
18.	Феникс1	2,1	2	2,1	Устойчивая
19.	F1 Спринт	1,8	1,7	1,8	Устойчивая
20.	F1 Хоббит	8	9	8,5	Восприимчивая

Изучение эффектов ОКС по признаку балл поражения ложной мучнистой росой при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1 показало, что эффекты ОКС варьировали в среднем от -1,9 (линия Бейок1-8) до 1,8 (линия Мадр1-639) (табл. 22). При этом эффекты ОКС значительно отличались в зависимости от года, что объясняется разницей погодных условий. Высоким эффектом ОКС обладали линии Мадр1-639, Рубб, Пасхц)3х4)06(15).

По данным дисперсионного анализа изучаемые гибридные комбинации существенно различались по признаку общая продуктивность (табл. 23). Продуктивность в среднем за 2 года варьировала от 0,3 (Пасхц)3х4)06(15) х Феникс1) до 0,77 кг/раст. (Бейок1-8 х Феникс1). Продуктивность различалась в зависимости от года, что объясняется погодными условиями и темпами развития возбудителя ложной мучнистой росы. Среди стандартов по признаку продуктивность лучшим оказался устойчивый гибрид F1 Спринт (0,38 кг/раст.), худшей устойчивой линией Феникс1 (0,04 кг/раст.).

Таблица 22 – ОКС по признаку устойчивость к ложной мучнистой росе при скрещивании в системе топкросс с отцовским компонентом линией Феникс1, 2023-2024 гг.

Генотип	Год		
	2023	2024	среднее за 2 года
Мадр1-639	2,8	0,9	1,9
Руб6	2,5	3,3	2,9
Пасхц)3х4)06(15)	2,1	0,9	1,5
Руб3	1,4	-0,2	0,6
Пв2-151	1,2	0,3	0,8
Sv3506	0,6	1,3	1,0
LS24-13	0,5	-0,7	-0,1
264(13)	0,3	0,3	0,3
M43	0,0	1,6	0,8
Кибр2-6	0,0	-0,4	-0,2
Пасхц)3х1)05	-0,6	-1,7	-1,1
Сф1	-1,1	-0,7	-0,9
S20-1(II)бн	-1,6	-1,4	-1,5
Z1(II)бн2-1	-2,0	-1,0	-1,5
Зел1-64	-2,0	-0,4	-1,2
Z1(II)б	-2,3	-0,7	-1,5
Бейок1-8	-2,0	-1,7	-1,8

У восприимчивого стандарта гибрида F1 Хоббит отмечено снижение общей продуктивности (0,37 кг/раст.). При сравнении гибридных комбинаций со стандартами по признаку продуктивность выявлено, что все гибридные комбинации существенно превзошли устойчивый стандарт линия Феникс1. Выявлена 3 гибридные комбинации (Сф1 х Феникс1, Зел1-64 х Феникс1, Z1(II)бн2-1 х Феникс1) достоверно превышающие по признаку продуктивность все стандарты в 2023 году. В 2024 году выявлены 6 гибридных комбинаций существенно превышающие по признаку общая продуктивность все стандарты

(Бейок1-8 х Феникс1, Кибр2-6 х Феникс1, Руб3 х Феникс1, Z1(II)бн2-1 х Феникс1, LS24-13 х Феникс1, Sv3506 х Феникс1).

Таблица 23 – Оценка гибридных комбинаций по признаку «общая продуктивность», 2023-2024 гг. (открытый грунт)

Образец	Продуктивность		
	2023 г.	2024 г.	среднее за 2 года
Пасхц)3х4)06(15) х Феникс1	226	370	298
Пв2-151 х Феникс1	234	425	329
264(13) х Феникс1	116	709	412
Руб6 х Феникс1	195	659	427
S 20-1(II)бн х Феникс1	198	780	489
Мадр1-639 х Феникс1	198	780	491
Пас х ц)3 х 1)05 х Феникс1	290	731	510
Z1 (II)6 х Феникс1	256	846	551
Сф1 х Феникс1	447	756	601
Зел 1-64 х Феникс1	342	875	609
Sv 3506 х Феникс1	216	1009	612
М43 х Феникс1	225	1004	614
LS 24-13 х Феникс1	169	1075	622
Кибр 2-6 х Феникс1	273	1213	743
Руб 3 х Феникс1	304	1190	747
Z1 (II)бн2-1 х Феникс1	316	1182	749
Бейок1-8 х Феникс1	222	1318	770
Феникс1	22	47	35
F1 Хоббит	204	623	368
F1 Спринт	216	541	379
НСР ₀₅	89	385	-

Погодные условия 2023 года способствовали активному развитию возбудителя ложной мучнистой росы благодаря низким ночным температурам. Погодные условия 2024 года привели к резкому снижению темпов развития симптомов поражения заболеванием, вследствие чего продуктивность исследуемых гибридных комбинаций резко выросла.

Совокупный анализ продуктивности и поражения пероноспорозом растений новых гибридных комбинаций партенокарпического огурца в двух годах испытания на естественном инфекционном фоне позволил установить оптимальные сроки посева и высадки рассады огурца в открытый грунт для полноценной оценки продуктивности и устойчивости к пероноспорозу в условиях Московской области, входящей в состав Центрального Нечерноземья России: посев семян 10 июня, высадка рассады в открытый грунт 01 июля.

Для селекции высокопродуктивных F1-гибридов партенокарпического огурца с устойчивостью к пероноспорозу в качестве исходного материала для создания инбредных линий при испытании в условиях открытого грунта отобраны гибридные комбинации (Z1(II)бн2-1 x Феникс1, Бейок1-8 x Феникс1, Зел 1-64 x Феникс1 и Сф1 x Феникс1), сочетающие высокую продуктивность и высокую устойчивость к пероноспорозу.

В результате изучения комплекса хозяйственно-ценных признаков, определяющих продуктивность растений партенокарпического огурца, при оценке в условиях открытого грунта выделены 6 новых перспективных гибридных комбинаций Рубб x Феникс1, (Пасхц)3х1)05 x РубМ, Сф1 x РубМ, Пас2-1111(18)18 x РубМ, Z1(II)б x РубМ, В1(II)1 x РубМ, рекомендуемых для проведения стационарного испытания.

Заключение

1. Установлено, что замена 3 % сахарозы в индукционной питательной среде MS на 3 % глюкозу значительно повышает частоту эмбриогенеза по крайней мере в 5 раз, с 7,8 до 50,3 эмбр./завязь в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей у образцов огурца, отличающихся низкой эмбриогенной способностью; частота эмбриогенеза образцов с высокой эмбриогенной способностью значительно не изменяется, за исключением одного из 4-х высокочувствительных образцов, проявившего значимое снижение частоты эмбриогенеза с 85,9 до 38 эмбр./завязь.
2. Показано, что использование завязей, отобранных во время цветения в стадии полураскрытого цветка для изоляции экспланта значительно более, чем в 2 раза повышает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей у образцов огурца, отличающихся низкой эмбриогенной способностью (с 7,8 до 37,8 эмбр./завязь), при этом значимого влияния на частоту эмбриогенеза в культуре *in vitro* для остальных образцов не выявлено.
3. Показано, что добавление в индукционную питательную среду MS антиоксиданта глутатиона в количестве 10 мг/л достоверно повышает частоту формирования эмбриоидов в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца в 1,5-2 раза для 3 из 6 образцов (50 %) (с 21,8 до 54,7 эмбр./завязь у образца № 13), частота эмбриогенеза остальных образцов при добавлении глутатиона значительно не изменяется по сравнению с индукционной питательной средой без глутатиона.
4. Установлено, что использование индукционной питательной среды MS, дополненной ингибитором этилена, путресцином 0,5 мг/л, значительно снижает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца или не приводит к формированию эмбриоидов у всех образцов.
5. Выявлено, что добавление гидролизата казеина в концентрации 250 мг/л в индукционную питательную среду MS значительно повышает частоту эмбриогенеза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца у 2 из 6 образцов более, чем в 2 раза с 10,9 до 26,8 эмбр./завязь, у трех из шести образцов не отмечено значимого влияния фактора, у 1 из 6 образцов - снижение частоты эмбриогенеза.

При этом добавление в индукционную питательную среду 500 мг/л гидролизата казеина частота эмбриогенеза значимо не различается по сравнению с контрольной питательной средой у всех образцов, за исключением одного образца, проявившего значимое снижение частоты эмбриогенеза с 31,1 до 13,5 эмбр./завязь.

6. Установлено, что добавление в индукционную питательную среду регуляторов роста TDZ и 2,4-D в количестве 0,04 и 0,15 мг/л, соответственно, значимо повышает частоту формирования эмбриоидов по меньшей мере в 1,5-2,0 раза в культуре семязачатков в составе фрагментов завязей огурца у 2 из 6 образцов (с 21,8 до 44,1 эмбр./завязь, с 31,1 до 54,6 эмбр./завязь), частота эмбриогенеза остальных образцов при добавлении одновременно TDZ и 2,4-D значимо не изменялась.

7. Анализом уровня ploидности листьев растений-регенерантов выявлена миксоploидность тканей, культивируемых *in vitro* растений; в сравнении с диплоидным стандартом установлено присутствие в эквивалентном количестве клеток, содержащих $2n$ и $4n$ наборы хромосом.

8. Показано, что дифференциация гиноцийных линий по аллельному состоянию гена *F* при анализе гибридных комбинаций от скрещивания гиноцийной линии с моноцийной, позволяет выявить линии с высокой выраженностью женского пола для создания F1-гибридов огурца. При оценке линий на женский тип цветения по силе аллелей гена *F* выделены 5 линий, обладающих сильными аллелями гена *F*: Рубб, S20-1(II)бн, Кибр2-6, Рубз, Мадр1-639. Данные линии рекомендованы для дальнейшего использования в качестве материнского компонента в селекции F1-гибридов партенокарпического огурца.

9. При изучении устойчивости к ложной мучнистой росе новых гибридных комбинаций проведена дифференциация по группам устойчивости, выделены гибридные комбинации, отличающиеся высоким уровнем устойчивости к ложной мучнистой росе: Пасхц)3x1)05 x Феникс1, Сф1 x Феникс1, S20-1(II)бн x Феникс1, Z1(II)бн2-1 x Феникс1, Зел1-64 x Феникс1, Бейок1-8 x Феникс1. Выявлена гибридная комбинация Бейок1-8 x Феникс1, сочетающая в себе высокий уровень устойчивости к ложной мучнистой росе на уровне устойчивых стандартов, линии

Феникс1 и гибрида F1 Спринт, и высокую общую продуктивность, значимо превышающую значение общей продуктивности стандартов, линии Феникс1 и гибрида F1 Спринт.

10. Установлено, что создание высокопродуктивных и высокоустойчивых к пероноспорозу F1-гибридов партенокарпического огурца достижимо вследствие отсутствия корреляции ($r = 0,05$) между ОКС по признаку общая продуктивность и ОКС по признаку устойчивость к пероноспорозу линий. Однако при этом отмечено, что две родительские линии Рубб и (Пасхц)3х1)05 лучшие по совокупности проявления гиноцийности, высоких и средних эффектов ОКС по признакам, общая продуктивность, масса плодов, число плодов, имели наибольшие значения эффектов ОКС по баллу поражения пероноспорозом.

11. В результате изучения комплекса хозяйственно-ценных признаков, определяющих продуктивность растений партенокарпического огурца, при оценке в условиях открытого и защищенного грунта выделены 7 новых перспективных гибридных комбинаций Рубб х Феникс1, (Пасхц)3х1)05 х РубМ, Сф1 х РубМ, Пас2-1111(18)18 х РубМ, Z1(II)6 х РубМ, В1(II)1 х РубМ, Бейок1-8 х Феникс1 рекомендованных для проведения стационарного испытания; в качестве исходного материала для создания инбредных линий выделены гибридные комбинации (Z1(II)бн2-1 х Феникс1, Бейок1-8 х Феникс1, Зел 1-64 х Феникс1 и Сф1 х Феникс1), сочетающие высокую продуктивность и высокую устойчивость к пероноспорозу.

Рекомендации производству

1. Изменение состава индукционной питательной среды MS при добавлении гидролизата казеина (250 мг/л), глутатиона (10 мг/л), регуляторов роста TDZ и 2,4-D (0,04 и 0,15 мг/л соответственно), глюкозы (3 %) и использование завязей, отобранных во время цветения в стадии полураскрытого цветка для изоляции экспланта, обеспечивающих максимальную частоту эмбриогенеза, рекомендованы для оптимизации технологии производства линий удвоенных гаплоидов огурца при реализации селекционных программ.

2. Инбредные родительские линии Рубб и Пасхц)3х1)05 рекомендованы для включения в селекционные программы по созданию высокопродуктивных F1-гибридов партенокарпического огурца.

3. 7 новых перспективных гибридных комбинаций Рубб х Феникс1, (Пасхц)3х1)05 х РубМ, Сф1 х РубМ, Пас2-1111(18)18 х РубМ, Z1(II)6 х РубМ, В1(II)1 х РубМ, Бейок1-8 х Феникс1, сочетающие высокую продуктивность и высокую устойчивость к пероноспорозу, рекомендованны для проведения стационарного испытания.

Библиографический список

1. Алексеева, К.Л.. Экологически безопасная система защиты огурца от пероноспороза / К.Л. Алексеева, К.Л. Деревщюков; Н.Н. Малеванная // Докл. ТСХА. – М., 2005. – Вып. 277. – С. 608-613
2. Байнозарова А. Н., Карлов Г. И., Хрусталева Л. И. Изучение полиморфизма генома огурца посевного (*Cucumis sativus* L.) с помощью ISSR-маркеров //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2007. – №. 1. – С. 56-60.
3. Брызгалов В. А. Овощеводство защищенного грунта/ВА Брызгалов, ВЕ Советкина, НИ Савинова.–2-е изд., перераб. и доп //М.: Колос. – 1995.
4. Бунин, М.С. Производство гибридных семян овощных культур / М.С. Бунин, Г.Ф. Монахос, В.И. Терехова. – Москва: Изд-во РГАУ-МСХА им. К.А.Тимирязева, 2011. – 181 с.
5. Буренин В. И., Пискунова Т. М., Гашкова И. В. К ПРОБЛЕМЕ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ В РОДЕ *CUCUMIS* L //Овощи России. – 2018. – №. 1. – С. 28-31.
6. Гиш Р.Л. Классификация овощных растений. /Гиш Р.Л., Фролов Е.М. // Изд-во Краснодар, КубГАУ, 2007. 2-е изд. Перераб. и доп. – 157 с.:ил.
7. Гринько, Н.Н. Ложная мучнистая роса огурца / Н.Н. Гринько. – Сочи, 2003. – 68 с.
8. Гринько Н.Н. Скрининг мировой коллекции генетических ресурсов ВИР им. Н.И. Вавилова с целью отбора генотипов огурца, устойчивых к *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. et Curt.) Rostowz. Овощи России. 2012;(1):50-53
9. Домблидес Е. А. и др. Получение удвоенных гаплоидов огурца (*Cucumis sativus* L.) //Овощи России. – 2019. – №. 5. – С. 3-14.
10. Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Белов С.Н., Коротцева И.Б., Солдатенко А.В. Получение ДН-растений огурца (*Cucumis sativus* L.) в культуре неопыленных семяпочек *in vitro*. Овощи России. 2019;(6):3-9. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-6-3-9>

11. Дорогина Д. Д. ПРИМЕНЕНИЕ ДНК МАРКЕРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ВИРУСУ ЗЕЛеноЙ КРАПЧАТОЙ МОЗАИКИ ОГУРЦА (CGMMV) //Энтузиасты аграрной науки. – 2021. – С. 171-173.
12. Дютин К. Е., Соколов С. Д., Пучков М. Ю. Селекционная ценность генной мужской стерильности в селекции тыквенных культур //Теоретические и прикладные проблемы АПК. – 2012. – №. 3. – С. 7-10.
13. Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А. Оценка и отбор сортообразцов огурца с женским типом цветения //Овощи России. – 2016. – №. 3. – С. 39-42. DOI:10.18619/2072-9146-2018-5-40-42
14. Коротцева И. Б., Кочеткова Л. А. Селекция на женский тип цветения гибридов огурца для первого оборота зимних теплиц //Овощи России. – 2018. – №. 6. – С. 18-22. DOI:10.18619/2072-9146-2018-6-18-22
15. Коротцева И. Б. Устойчивость огурца к ложной мучнистой росе в условиях Нечерноземной зоны РФ //Овощи России. – 2020. – №. 6. – С. 116-119.
16. Коротцева И. Б., Химич Г. А. Основные направления и задачи селекции тыквенных культур //Овощи России. – 2015. – №. 2. – С. 17-21.
17. Крылов, О.Н. Зимние пчелоопыляемые тройные и простые гибриды огурца / О.Н. Крылов // Теплицы России. – 2011. – №2. – С. 46-48.
18. Медведев, А.В. Итоги и перспективы селекции огурца в Южном округе России / А.В. Медведев, Н.И. Медведева, А.А. Медведев // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. – М., 2008. – Т. 2. – С. 194-197.
19. Медведев, А.В. Ложная мучнистая роса / А.В. Медведев // Новый земледелец. – 2014. – №1 (82). – С. 24-25.
20. Монахос Г. Ф., Чан Т. К. Т., Ушанов А. А. Корреляции в селекции F1 гибридов огурца //Картофель и овощи. – 2013. – №. 10. – С. 28-29.
21. Налобова, В.Л. Селекция и семеноводство огурца открытого грунта / В.Л. Налобова, А.Я. Хлебородов. – Минск: Беларус. наука, 2012. – 238 с.
22. Налобова, В.Л. Селекция огурца на устойчивость к болезням: монография / В.Л. Налобова. – Минск: Белпринт, 2005. – 200 с.

23. Налобова, В.Л. Селекция и семеноводство огурца открытого грунта / В.Л. Налобова, А.Я. Хлебородов. – Минск: Беларус. наука, 2012. – 238 с.
24. Нгуен Ч. З., Ушанов А. А., Монахос Г. Ф. Оценка комбинационной способности партенокарпических гиноцийных и моноцийных линий огурца по продуктивности корншонов и продуктивности стандартных плодов //Овощи России. – 2015. – №. 2. – С. 24-31.
25. Осминина, Е. В. Оценка материнских линий огурца (*Cucumis sativus* L.) на женский тип цветения по силе аллелей гена F / Е. В. Осминина, С. Г. Монахос // Картофель и овощи. – 2024. – № 4. – С. 36-40. – DOI 10.25630/PAV.2024.34.66.007. – EDN OQNODV.
26. Пахратдинова Ж. У., Рсалиев А. С., Амирханова Н. Т. Изучение генетических основ устойчивости сортов огурца к пероноспорозу на основе молекулярно-генетических маркеров //Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – №. 11-3 (65). – С. 85-89.
27. Пивоваров, В.Ф. Селекция огурца на общую адаптивную способность и комплексную устойчивость к болезням / В.Ф. Пивоваров // Докл. ВАСХНИЛ. - № 3. - М., 1990. - С. 14-16.
28. Портянкин, А.Е. Создание исходного материала и селекция партенокарпических гибридов огурца для защищенного грунта: автореф. дис.... канд. с.-х. наук: 06.01.05 / А.Е. Портянкин. – М., 2006. – 24 с.
29. Пыженков В.И. Взаимодействие генов, контролирующих различные типы проявления пола у огурца (*Cucumis sativus* L.) // Научно-техн. бюл. ВИР. – Ленинград, 1987. – Вып. 170. – С. 42-47.
30. Пыженков, В.И. Культурная флора. Тыквенные (огурец, дыня) / В.И. Пыженков, М.И. Малинина. – М.: Колос, 1994. – Т. 21. – 287 с.
31. Сахарова А. Н. и др. Применение SSR-маркеров для оценки уровня гибридности семян F1 огурца //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2011. – №. 6. – С. 150-155.

32. Солдатенко А. В., Пышная О. Н. Роль селекции овощных культур и современных исследований в продовольственной стабильности //Овощи России. – 2018. – №. 5. – С. 5-8.
33. Тараканов, Г.И. Использование сложных материнских форм в создании гибрида огурца для защищённого грунта / Г.И. Тараканов, А.В. Борисов, О.Н. Крылов // Прогрессив. приемы в овощеводстве, селекции и семеноводстве овощных культур. – 1987. – С. 23-27.
34. Тимошенко Н.Н. Распространение пероноспороза огурца. Эпоха науки. 2016;(8):265-277.
35. Ткаченко Н.Н. Генетические основы селекционной работы с материнскими формами гетерозисных гибридов огурцов. – Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1979. – Т.65. – Вып.3. – С.22-25.
36. Ткаченко Н.Н. Селекция гибридных огурцов // Достижения отечественной селекции. – М., 1967. – С. 363-368.
37. Ткаченко Н.Н. Селекционная работа с гибридами огурцов первого поколения // Тр. Крымской ООС ВИР. – Том 4. – Краснодарское книжное изд-во, 1968. – С. 3-14.
38. Федоренко В.Ф., Мишуров Н.П., Неменушая Л.А. Анализ состояния и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур: науч. анал. обзор. – ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – 96 с.
39. Хомченко Н. Н., Будылин М. В., Гавриш С. Ф. Оценка родительских линий огурца и гибридов F1 на устойчивость к болезням при помощи маркер-опосредованной селекции на платформе ПЦР в реальном времени //Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2018. – №. 72. – С. 363-368.
40. Черненко В.Л., Сергиенко О.В., Бондаренко С.В. Зависимость хозяйственно-ценных признаков огурца корнишонного типа от устойчивости к пероноспорозу. Защита и карантин растений. 2014;(10):44-45.
41. Шмыкова Н.А., Супрунова Т.П. Индукция гиногенеза в культуре *in vitro* неопыленных семян Cucumis sativus L. // Гавриш - 2009. -№4. –С.40-44.

42. Шмыкова Н. А. и др. Перспективы получения удвоенных гаплоидов растений семейства Cucurbitaceae / Н.А. Шмыкова, Г.А. Химич, И.Б. Коротцева, Е.А. Домблидес // Овощи России. – 2015. – №. 3-4. – С. 28-31.
43. Шуляк Е. А., Гороховский В. Ф. Новые гибриды огурца в Приднестровье //Картофель и овощи. – 2018. – №. 6. – С. 33-34.
44. Юрина О.В. Селекция и семеноводство тыквенных культур в России / О.В. Юрина, В.Ф. Пивоваров, С.С. Балашова. – 1998. – 424 с.
45. Aalders LE. Monoploidy in Cucumbers. J. Heredity. 1958;49(1);41-44.
46. Abdollahi MR, Najafi S, Sarikhani H, Moosavi SS. Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. Turk J Biol. 2016; 40:1–10.
47. Ahmad N., Anis M. In vitro mass propagation of *Cucumis sativus* L. from nodal segments //Turkish journal of botany. – 2005. – Т. 29. – №. 3. – С. 237-240.
48. Amirian R, Hojati Z, Azadi P. Male flower induction significantly affects androgenesis in cucumber (*Cucumis sativus* L.). The Journal of Horticultural Science and Biotechnolog. 2019.
49. Antos M, Bułat E, Zawislak E. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploids induction with use of X-rays. Folia Hort. 2001;13(1A):81–84
50. Asadi A, Zebarjadi A, Abdollahi MR, Segun-Simarro JM. Assessment of different anther culture approaches to produce doubled haploids in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Euphytica. 2018;11:214,216.
51. Bai SL, Peng YB, Cui JX, Gu HT, Xu LY, Li YQ, Xu ZH, Bai SN (2004) Developmental analyses reveal early arrests of the spore-bearing parts of reproductive organs in unisexual flowers of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Planta 220:230–240
52. Baktemur G. et al. Effects of genotype and nutrient medium on obtaining haploid plants through ovary culture in cucumber / G. Baktemur, D. Keles, E. Kara, S. Yıldız, H. Taskın //Molecular Biology Reports. – 2022. – Т. 49. – №. 6. – С. 5451-5458.
53. Bednarek P. T. et al. Glutathione and copper ions as critical factors of green plant regeneration efficiency of triticale in vitro anther culture / P.T. Bednarek, R. Orłowska,

- D.R. Mankowski, J. Zimny, K. Kowalczyk, M. Nowak, J. Zebrowski //Frontiers in Plant Science. – 2022. – T. 13. – C. 926305.
54. Belling J, Blakeslee AF. The configurations and sizes of the chromosomes in the trivalents of 25-chromosome *Daturas*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1924;10(3):116.
55. Berg JA, Hermans FWK, Beenders F, Lou LN, Vriezen WH, Visser RGF, Bai YL, Schouten HJ (2020) Analysis of QTL DM4.1 for downy mildew resistance in cucumber reveals multiple subQTL: a novel RLK as candidate gene for the most important subQTL. Front Plant Sci 11:1601
56. Blakeslee A. F. et al. A haploid mutant in the jimson weed, "*Datura stramonium*" //Science. – 1922. – T. 55. – №. 1433. – C. 646-647.
57. Blakeslee A. F., Avery A. G. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants: by treatment with colchicine //Journal of Heredity. – 1937. – T. 28. – №. 12. – C. 393-411.
58. Bohanec B. Doubled haploids via gynogenesis. – Springer Netherlands, 2009. – C. 35-46.
59. Boualem, A., Troadec, C., Camps, C., Lemhemdi, A., Morin, H., Sari, M.-A., et al. (2015). A cucurbit androecy gene reveals how unisexual flowers develop and dioecy emerges. Science 350 (6261), 688–691. doi: 10.1126/science.aac8370
60. Caglar G, Abak K. In situ haploid embryo induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) after pollination by irradiated pollen. Turk J Agric For.1999a;23(EK1):63–72.
61. Caglar G, Abak K. Obtention of in vitro haploid plants from in situ induced haploid embryos in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Turk J Agric For.1999b;23(3):283–290.
62. Chase SS, Troits B. Culture of haploids cell. M. Gen. Coop. N. L.1949;33:130.
63. Chen J. et al. Reproduction and cytogenetic characterization of interspecific hybrids derived from *Cucumis hystrix* Chakr.× *Cucumis sativus* L //Theoretical and Applied Genetics. – 2003. – T. 106. – C. 688-695.

64. Chen J., Vanek E., Pieper M. Method for producing haploid, dihaploid and doubled haploid plants by isolated microspore culture. US2018/0213736A1
65. Chen J, Zhan Y, Qian C, Lou Q. Cultivation method for isolated microspore of cucumber. Nanjing Agricultural University.2008. Patent no CN 101317548.
66. Chen Q. et al. Genetics and resistance mechanism of the cucumber (*Cucumis sativus* L.) against powdery mildew //Journal of Plant Growth Regulation. – 2021. – T. 40. – C. 147-153.
67. Cramer C.S., Wehner T.C. Path analysis of the correlation between fruit number and plant traits of cucumber populations. Horticultural Science. 2000;(35):708–711. doi:10.21273/HORTSCI.35.4.708
68. Deng Y. et al. Direct regeneration of haploid or doubled haploid plantlets in cucumber (*Cucumis sativus* L.) through ovary culture //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2020. – T. 142. – №. 2. – C. 253-268.
69. Diao, W.-P., Jia, Y.-Y., Song, H., Zhang, X.-Q., Lou, Q.-F., & Chen, J.-F. (2009). Efficient embryo induction in cucumber ovary culture and homozygous identification of the regenerants using SSR markers. *Scientia Horticulturae*, 119 (3), 246–251. DOI: 10.1016 | j.scienta.2008.08.016
70. Dirks R. Method for the production of double-haploid cucumbers. 1996. United States Patent No. 5,492,827.
71. Don Palmer C. E., Keller W. A. Overview of haploidy //Haploids in crop improvement II. – Springer, Berlin, Heidelberg, 2005. – C. 3-9.
72. Dong Y. Q. et al. Androgenesis, gynogenesis, and parthenogenesis haploids in cucurbit species / Y.Q. Dong, W.X. Zhao, X.H. Li, X.C. Liu, N.N. Gao, J. H. Huang, Z.H. Tang //Plant cell reports. – 2016. – T. 35. – C. 1991-2019.
73. Dryanovska OA. Induced callus in vitro from ovaries and anthers of species from the Cucurbitaceae family. *C R Acad Bulg Sci*. 1985;38:1243–1244.
74. Dunwell J. M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation //Plant biotechnology journal. – 2010. – T. 8. – №. 4. – C. 377-424.

75. Dumas de Vaultx R., Chambonnet D. Obtention of embryos and plants from in vitro culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo* //Proc. International Symposium, EUCARPIA, Walter de Gruyter & Co., Berlin, German. – 1986. – C. 295-297.
76. Elmeer K. E. S. Factors regulating somatic embryogenesis in plants //Somatic embryogenesis and gene expression. New Delhi: Narosa Publishing House. – 2013. – C. 56-81.
77. Erol M. H., Sarı N. The effect of ovule-ovary culture and spermidine-putrescine applications on haploid embryo induction of cucumber (*Cucumis sativus* L.). – 2019.
78. Eun, JS, Bak HB. Studies on the anther culture of *Cucumis sativus*:
79. Histological studies on the diploid. *Kor J Plant Tissue Culture*. 1974; 2(1):17-22.
80. Hao YJ, Wang DH, Peng YB, Bai SL, Xu LY, Li YQ, Xu ZH, Bai SN (2003) DNA damage in the early primordial anther is closely correlated with stamen arrest in the female flower of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Planta* 217:888–895
81. Faris NM, Niemirowicz-Szczytt K. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) embryo development in situ after pollination with irradiated pollen. *Acta Biol*. 1999;41:111-118.
82. Gałazka J., Niemirowicz-Szczytt K. Review of research on haploid production in cucumber and other cucurbits //Folia Horticulturae. – 2013. – T. 25. – №. 1. – C. 67-78.
83. Galun, E., Jung, Y., and Lang, A. (1962). Culture and sex modification of male cucumber buds in vitro. *Nature* 194, 596–598. doi: 10.1038/194596a0
84. Gemes-Juhász A. et al. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on in vitro gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) / A. Gemes-Juhász, P. Balogh, A. Ferenczy, Z. Kristof //Plant Cell Reports. – 2002. – T. 21. – C. 105-111.
85. Golabadi M. et al. Embryo and callus induction by different factors in ovary culture of cucumber //Journal of Applied Botany and Food Quality. – 2017. – T. 90.
86. Gou C. et al. Evaluation and genetic analysis of parthenocarpic germplasms in cucumber //Genes. – 2022. – T. 13. – №. 2. – C. 225.

87. Guis M. et al. An efficient method for production of diploid cantaloupe charentais melon (*Cucumis melo* L. var. *cantalupensis*) by somatic embryogenesis // *Scientia horticultrae*. – 1997. – T. 69. – №. 3-4. – C. 199-206.
88. Hayase H. Studies on *Cucurbita* crosses. V. The occurrence of twin plants with a haploid chromosome number in the F1 of *C. maxima* x *C. moschata*. *Jap. Jour. Breed.* 1954; 4:115-121
89. Hu, B., Li, D., Liu, X., Qi, J., Gao, D., Zhao, S., et al. (2017). Engineering nontransgenic gynoeocious cucumber using an improved transformation protocol and optimized CRISPR/Cas9 system. *Mol. Plant* 10 (12), 1575–1578. doi: 10.1016/j.molp.2017.09.005
90. Hyde P. T., Earle E. D., Mutschler M. A. Doubled haploid onion (*Allium cepa* L.) lines and their impact on hybrid performance // *HortScience*. – 2012. – T. 47. – №. 12. – C. 1690-1695.
91. Jakše M., Bohanec B. Haploid induction in onion via gynogenesis // *Doubled haploid production in crop plants: a manual*. – Dordrecht : Springer Netherlands, 2003. – C. 281-285.
92. Kumar H. G. A., Murthy H. N., Paek K. Y. Embryogenesis and plant regeneration from anther cultures of *Cucumis sativus* L // *Scientia horticultrae*. – 2003. – T. 98. – №. 3. – C. 213-222.
93. Ashok Kumar H. G., Murthy H. N. Effect of sugars and amino acids on androgenesis of *Cucumis sativus* // *Plant cell, tissue and organ culture*. – 2004. – T. 78. – C. 201-208.
94. Kurtar ES, Balkaya A. Production of in vitro haploid plants from in situ induced haploid embryos in winter squash (*Cucurbita maxima* Duchesne ex Lam.) via irradiated pollen. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2010;102(3): 267-277.
95. KURTAR E. S., SEYMEN M., Ünal K. A. L. An overview of doubled haploid plant production in *Cucurbita* species // *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*. – 2020. – T. 30. – №. 3. – C. 510-520.
96. Kwack SN, Fujieda K (1988) Somatic embryogenesis in cultured unfertilized ovules of *Cucurbita moschata*. *J Jpn Soc Hortic Sci* 57(1):34–42

97. Ladyman J. A. R., Girard B. Cucumber somatic embryo development on various gelling agents and carbohydrate sources //HortScience. – 1992. – T. 27. – №. 2. – C. 164-165.
98. Lazarte JE, Sasser CC. Asexual embryogenesis and plantlet development in anther culture of *Cucumis sativus* L. HortScience. 1982;17:88.
99. Li, J. W., Si, S. W., Cheng, J. Y., Li, J. X., & Liu, J. Q. (2013). Thidiazuron and silver nitrate enhanced gynogenesis of unfertilized ovule cultures of *Cucumis sativus*. *Biologia plantarum*, 57(1), 164-168.
100. Li, Z., Han, Y., Niu, H., Wang, Y., Jiang, B., and Weng, Y. (2020). Gynoecey instability in cucumber (*Cucumis sativus* L.) is due to unequal crossover at the copy number variation-dependent femaleness (F) locus. *Horticulture Res.* 7(32). doi: 10.1038/s41438-020-0251-2
101. Li, Z., Huang, S., Liu, S., Pan, J., Zhang, Z., Tao, Q., et al. (2009). Molecular isolation of the m gene suggests that a conserved-residue conversion induces the formation of bisexual flowers in cucumber plants. *Genetics* 182 (4), 1381–1385. doi: 10.1534/genetics.109.104737
102. Lichter R. Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Z Pflanzenphysiol.* 1982;105:427–434.
103. Liu X. et al. Identification of novel loci and candidate genes for cucumber downy mildew resistance using GWAS //Plants. – 2020. – T. 9. – №. 12. – C. 1659.
104. Lou H., Kako S. Role of high sugar concentrations in inducing somatic embryogenesis from cucumber cotyledons //Scientia Horticulturae. – 1995. – T. 64. – №. 1-2. – C. 11-20.
105. Luo H., Zhang H., Wang H. Advance in sex differentiation in cucumber //Frontiers in Plant Science. – 2023. – T. 14. – C. 1186904.
106. Martin, A., Troadec, C., Boualem, A., Rajab, M., Fernandez, R., Morin, H., et al. (2009). A transposon-induced epigenetic change leads to sex determination in melon. *Nature* 461 (7267), 1135–1138. doi: 10.1038/nature08498

107. Moqbeli, E., Peyvast, G. H., Hamidoghli, Y., & Olfati, J. A. (2013). In vitro cucumber haploid line generation in several new cultivars. *AsPac J Mol Biol Biotechnol*, 21(1), 18-25.
108. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 1962;15:473–497.
109. Morisson G. The occurrence and use of haploid plants in tomato with special reference to the variety Marglobe. *Proc. VI. Int. Cong. Genet.* 1932;2:137
110. Murphy J. T. et al. Globalisation and pollinators: Pollinator declines are an economic threat to global food systems // *People and Nature*. – 2022. – T. 4. – №. 3. – C. 773-785.
111. Murovec J., Bohanec B. Haploids and doubled haploids in plant breeding // *Plant Breeding*, Dr. Ibrokhim Abdurakhmonov (Ed.). – 2012. – P. – 2011. – C. 87-106.
112. Nyirahabimana F., Solmaz İ. Haploid induction through ovary culture in cucumber // *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. – 2024. – T. 60. – №. 1. – C. 122-130.
113. Pawełkowicz, M., Prysycz, L., Skarzyńska, A., Wóycicki, R. K., Posyniak, K., Rymuszka, J., et al. (2019). Comparative transcriptome analysis reveals new molecular pathways for cucumber genes related to sex determination. *Plant Reprod.* 32, 193–216. doi: 10.1007/s00497-019-00362-z
114. Przyborowski JA and Niemirowicz-Szczytt K. Main factors affecting cucumber (*Cucumis sativus* L.) haploid embryo development and haploid plant characteristics. *Plant Breeding*. 1994;112:70-75.
115. Ozsan, T., Gozen, V., & Onus, A. (2017). Cucumber Gynogenesis: Effects of 8 Different Media on Embryo and Plant Formation. *International J. of Agriculture Innovations and Research*, 6(2), 419-422.
116. Shalaby T. A. Factors affecting haploid induction through in vitro gynogenesis in summer squash (*Cucurbita pepo* L.) // *Scientia horticultrae*. – 2007. – T. 115. – №. 1. – C. 1-6.

117. Skalova D. et al. Polyploidization facilitates biotechnological in vitro techniques in the genus *Cucumis* / D. Skalova, V. Ondrej, I. Dolezalova, B. Navratilova, A. Lebeda //BioMed Research International. – 2010. – T. 2010.
118. Skálová D. et al. Interspecific hybridization of *Cucumis anguria* and *C. zeyheri* via embryo-rescue //Biologia plantarum. – 2008. – T. 52. – C. 775-778.
119. Sriskandarajah S. et al. Increased recovery of green doubled haploid plants from barley anther culture //Crop Science. – 2015. – T. 55. – №. 6. – C. 2806-2812.
120. Sorntip, A., Poolsawat, O., Kativat, C., & Tantasawat, P. A. (2017). Gynogenesis and doubled haploid production from unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Canadian journal of plant science, 98(2), 353-361.
121. Song H, Lou QF, Luo XD, Wolukau JN, Diao WP, Qian CT, Chen JF. Regeneration of doubled haploid plants by androgenesis of cucumber (*Cucumis sativus* L.). Plant Cell Tiss Org Cult. 2007; 90(3):245–254.
122. Suprunova T, Shmykova N. In vitro induction of haploid plants in unpollinated ovules, anther and microspore culture of *Cucumis sativus*. In: Pitrat M (ed) Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae. 2008;371–374.
123. Sztangret-Wisniewska J, Gałecka T, Korzeniewska A, Marzec I, Kołakowska G, Piskurewicz U. Characteristics of double-haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) Lines resistant to downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*). Proc. Cucurbitaceae 2006;515-526.
124. Tang F. et al. In vitro production of haploid and doubled haploid plants from pollinated ovaries of maize (*Zea mays*) //Plant cell, tissue and organ culture. – 2006. – T. 84. – C. 233-237.
125. Tantasawat, P. A., Sorntip, A., Poolsawat, O., Chaowiset, W., & Pornbungkerd, P. (2015). Evaluation of factors affecting embryo-like structure and callus formation in unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus*). International Journal of Agriculture and Biology, 17(3).

126. Thiruvengadam M., Chung I. M. Phenolic compound production and biological activities from in vitro regenerated plants of gherkin (*Cucumis anguria* L.) //Electronic Journal of Biotechnology. – 2015. – T. 18. – №. 4. – C. 295-301.
127. Thiruvengadam M. et al. Effect of exogenous polyamines enhances somatic embryogenesis via suspension cultures of spine gourd (*Momordica dioica* Roxb. ex. Willd.) //Australian Journal of Crop Science. – 2013. – T. 7. – №. 3. – C. 446-453.
128. Truong-Andre I., 1988. In vitro haploid plants derived from pollination by irradiated pollen of cucumber. Proc. Eucarpia Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, 31 May-2 June, Avignon-Montfavet, France: 143-144.
129. Wang Y, Vandenlangenberg K, Wehner TC, Kraan PAG, Suelmann J, Zheng XY, Owens K, Weng YQ (2016) QTL mapping for downy mildew resistance in cucumber inbred line WI7120 (PI330628). *Theor Appl Genet* 129:1493–1505
130. Watts A. et al. In vivo haploid production in crop plants: methods and challenges //Plant Molecular Biology Reporter. – 2018. – T. 36. – №. 5. – C. 685-694.
131. Wędzony M. et al. Progress in doubled haploid technology in higher plants //Advances in haploid production in higher plants. – 2009. – C. 1-33.
132. Wen, H., Chen, Y., Du, H., Zhang, L., Zhang, K., He, H., et al. (2020). Genome-wide identification and characterization of the TCP gene family in cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their transcriptional responses to different treatments. *Genes* 11 (11), 1379. doi: 10.3390/genes11111379
133. Win KT, Vegas J, Zhang C, Song K, Lee S (2017) QTL mapping for downy mildew resistance in cucumber via bulked segregant analysis using next generation sequencing
134. Wutz A. Haploid animal cells //Development. – 2014. – T. 141. – №. 7. – C. 1423-1426.
135. Yeob Lee S., Ho Lee J., Oh Kwon T. Selection of salt-tolerant doubled haploids in rice anther culture //Plant cell, tissue and organ culture. – 2003. – T. 74. – C. 143-149.

136. Zeng A. et al. Reduced ascorbate and reduced glutathione improve embryogenesis in broccoli microspore culture //South African journal of botany. – 2017. – T. 109. – C. 275-280.
137. Zhan Y, Chen JF, Malik AA. Embryoid induction and plant regeneration of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through microspore culture. *Acta Horti Sin.* 2009;36(2):221–226/
138. Zhang, Z., Mao, L., Chen, H., Bu, F., Li, G., Sun, J., et al. (2015). Genome-wide mapping of structural variations reveals a copy number variant that determines reproductive morphology in cucumber. *Plant Cell* 27 (6), 1595–1604. doi: 10.1105/tpc.114.135848
139. Zhu Y. et al. Regeneration of double haploid plants from unpollinated ovary cultures of watermelon. – 2019.
140. Zhuo D. et al. Molecular genetic basis of resistance to downy mildew in cucumber and melon //Journal of Plant Pathology. – 2024. – C. 1-8.
141. Zieliński K. et al. The effect of glutathione and mannitol on androgenesis in anther and isolated microspore cultures of rye (*Secale cereale* L.) //Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). – 2020. – T. 140. – №. 3. – C. 577-592.
142. Żur I. et al. Glutathione provides antioxidative defence and promotes microspore-derived embryo development in isolated microspore cultures of triticale (\times *Triticosecale* Wittm.) //Plant Cell Reports. – 2019. – T. 38. – C. 195-209.

Приложения

Приложение А

Состав базовых питательных сред

Компоненты среды	MS (Murashige and Skoog, 1962)	ИМС (Домблдес Е.А., 2019)
Макроэлементы		
KNO ₃	1900	2500
CaCl ₂ *2H ₂ O	440	330
KH ₂ PO ₄	170	170
MgSO ₄ *7H ₂ O	370	370
KCl		-
NH ₄ NO ₃	1650	412
Микроэлементы		
MnSO ₄ *4H ₂ O	22,3	22,3
ZnSO ₄ * 7H ₂ O	8,6	8,6
H ₃ BO ₃	6,2	6,2
KI	0,83	0,83
Na ₂ MoO ₄	0,25	0,25
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,025	0,025
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,025	0,025
Источник железа		
FeSO ₄ *7H ₂ O	27,8	27,8
Na ₂ EDTA *2H ₂ O	37,3	-
Органические вещества		
Thiamin*HCl	0,1	3
Glycine	2	-
Nicotinic acid	0,5	5
Pyridoxine*HCl	0,5	0,5
Myo-Inositol	100	100
L-Serine	-	100
L-Glutamine	-	800
Proline	-	100