

А.В. КУЗЬМЕНСКИЙ

Институт овощеводства и бахчеводства УААН,
п/о Селекционное Харьковской обл.
E-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua.

ЭФФЕКТЫ МЕЖГЕННОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНА ПОВЫШЕННОЙ ПИГМЕНТАЦИИ *hp-2^{dg}* (*HIGH PIGMENT-2 DARK GREEN*) С ГЕНОМ *B* (*BETA-CAROTENE*) У ТОМАТА



Показано, что при межгеномном взаимодействии генов *hp-2^{dg}* и *B* в дигомозиготе выявляется эффект сверхэкспрессивности, активизирующий биогенез β -каротина в плодах томата. У генотипа *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* сохраняется положительное влияние гена *hp-2^{dg}* на содержание аскорбиновой кислоты и отрицательное — на содержание титруемых кислот. При этом наблюдается стабилизация генетической депрессии гена *hp-2^{dg}*, что проявляется в более высокой продуктивности *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*-генотипов.

© А.В. КУЗЬМЕНСКИЙ, 2008

Введение. У томата (*Lycopersicon esculentum*) описано несколько фотоморфогенетических мутантов, среди которых заслуживает внимания серия моногенно-рецессивных мутаций *high pigment* (*hp-1*, *hp-1^w*, *hp-2*, *hp-2^j*, *hp-2^{dg}*), характеризующихся усиленной светоотзывчивостью [1]. Эти мутанты имеют более короткий гипокотиль, высокий уровень содержания антоциана и хлорофилла в сеянцах, более темную пигментацию листьев и плодов в сравнении с изогенными линиями дикого типа [2–4]. Зрелые плоды *hp*-мутаций характеризуются сверхпродукцией многих метаболитов, некоторые из которых (ликопин, β -каротин, аскорбиновая кислота, токоферолы) обладают антиоксидантным или фотопротекторным действием [4, 5]. Эти метаболиты могут активно использоваться как дополнительные ресурсы, синтезируемые в растениях, вследствие более эффективного поглощения через альтернативное регулирование сигнального трансдукционного пути фитохрома, присутствующего у мутаций *hp* [6, 7].

Происхождение *hp*-мутантов томата недавно экстенсивно пересмотрено [7–9]. Изначально считалось, что *hp*-мутации вызывают повреждения в структурных генах биосинтеза каротиноидов [10]. Однако в последних исследованиях установлено: 1) гены *hp-2*, *hp-2^j* и *hp-2^{dg}* представляют собой различные мутации в гене, кодирующем у томата гомолог ядерного протеина DEETIOLATED1 (DET1) *Arabidopsis thaliana*, негативно регулирующего фотоморфогенезис [1, 7]; 2) *hp-1* и *hp-1^w* представляют собой различные мутации томата, гомологичные гену человека и *A. thaliana*, который кодирует UV-поврежденный DNA-связывающий протеин 1 (DDB1) [8, 9].

Мутация *hp-2^{dg}* первоначально обнаружена в производственных посевах индетерминантного сорта Manaparal и изначально была обозначена как *dark green* (*dg*) [11]. В исследованиях Levin et al. [1] показано, что ген *dg* — это мутантный аллель гена *Hp-2*, который по согласованию с R.T. Chetelat (Tomato Genetics Cooperative, UC Davis, CA, USA) получил обозначение *hp-2^{dg}*.

Исследования, описывающие содержание метаболитов у *hp*-мутантов, свидетельствуют о том, что за счет их интрогрессии в геном сортов культурного томата можно существенно повысить уровень содержания в зрелых пло-

дах каротиноидов (ликопин и каротины) и аскорбиновой кислоты (витамин С) [2–4, 12]. В наших исследованиях выявлено, что за счет межгенного взаимодействия генов серии *hp* с геном *B* удается еще более активизировать биогенез β -каротина [13, 14].

Цель настоящего исследования состояла в изучении биохимических эффектов межгенного взаимодействия мутаций повышенной пигментации *hp-2^{dg}* с геном *B* для разработки способов повышения качества плодов томата за счет использования мутантных генов и создания на их основе нового селекционного материала.

Материал и методика. Семена контрольных растений сорта Manara1 и его изогенной линии Dark Green с гомозиготой гена *hp-2^{dg}* были любезно предоставлены R.T. Chetelat. В качестве источников гена *B* использованы сорта Дружба (*B/B*), Очарование (*B/B*) и Барон (*B/B*). Для изучения особенностей межгенного взаимодействия гена *hp-2^{dg}* с геном *B* проведены парные скрещивания: Dark Green \times Дружба, Очарование \times Dark Green, Барон \times Dark Green.

В расщепляющихся популяциях второго и третьего поколения (F_{2-3}) отбирали генотипы, сочетающие признак оранжевоплодности (ген *B*) с повышенной пигментацией незрелого плода и листьев (ген *hp-2^{dg}*). В последующих поколениях отбирали наиболее продуктивные растения, плоды с которых использовали для биохимической оценки, а выделенные семена — для дальнейшей селекционной работы.

При проведении исследований руководствовались методическими рекомендациями ВАСХНИЛ [15]. Биохимические анализы на содержание в плодах томата сухого вещества, сахаров, аскорбиновой кислоты, титруемых кислот и β -каротина проводили согласно общепринятым методикам в аккредитованной лаборатории аналитических измерений ИОБ УААН под руководством канд. с.-х. наук В.Е. Барсуковой. Результаты исследований обрабатывали по методике Доспехова [16].

Результаты исследований и их обсуждение. Оценка биохимических показателей дигомозиготных *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*-генотипов, отобран-

Таблица 1

Эффекты взаимодействия генов *hp-2^{dg}* и *B*

Генотип	Вегетационный период, дни	Продуктивность, г/растение	Масса плода, г	Кислотность, %	Аскорбиновая кислота, мг/%	β -каротин, мг/%
2003 г.						
<i>B/B</i>	122 \pm 1,2	3780 \pm 240	84 \pm 2,7	0,46 \pm 0,02	19,85 \pm 0,34	0,97 \pm 0,03
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	139 \pm 1,6	1620 \pm 120	81 \pm 2,6	0,42 \pm 0,01	28,24 \pm 0,27	0,57 \pm 0,02
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	133 \pm 1,4	2370 \pm 180	79 \pm 3,1	0,33 \pm 0,02	25,50 \pm 0,41	3,74 \pm 0,06
2004 г.						
<i>B/B</i>	118 \pm 0,9	3612 \pm 320	84 \pm 2,8	0,50 \pm 0,02	16,63 \pm 0,25	0,90 \pm 0,03
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	134 \pm 1,5	1320 \pm 170	110 \pm 4,1	0,42 \pm 0,02	34,18 \pm 0,47	0,53 \pm 0,02
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	128 \pm 1,2	2484 \pm 210	92 \pm 3,1	0,38 \pm 0,01	34,24 \pm 0,36	1,87 \pm 0,04
2005 г.						
<i>B/B</i>	122 \pm 0,8	4000 \pm 365	80 \pm 2,5	0,46 \pm 0,01	21,40 \pm 0,26	1,06 \pm 0,05
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	140 \pm 1,7	1624 \pm 135	114 \pm 4,5	0,45 \pm 0,02	33,35 \pm 0,42	0,55 \pm 0,03
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	134 \pm 1,3	2880 \pm 215	96 \pm 3,2	0,36 \pm 0,02	41,15 \pm 0,50	1,67 \pm 0,08
2006 г.						
<i>B/B</i>	121 \pm 0,9	3198 \pm 295	82 \pm 2,0	0,47 \pm 0,01	18,50 \pm 0,25	1,38 \pm 0,03
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	137 \pm 2,1	1500 \pm 145	75 \pm 1,7	0,43 \pm 0,01	33,39 \pm 0,42	0,73 \pm 0,02
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	130 \pm 1,8	2736 \pm 187	76 \pm 2,3	0,40 \pm 0,02	35,02 \pm 0,43	2,38 \pm 0,04
2003–2006 гг.						
<i>B/B</i>	121 \pm 1,0	3648 \pm 305	83 \pm 2,5	0,47 \pm 0,02	19,10 \pm 0,28	1,08 \pm 0,04
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	138 \pm 1,7	1516 \pm 145	95 \pm 3,2	0,43 \pm 0,02	32,29 \pm 0,40	0,59 \pm 0,02
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	131 \pm 1,4	2618 \pm 198	86 \pm 2,9	0,37 \pm 0,02	33,98 \pm 0,43	2,42 \pm 0,05

ных в гибридных комбинациях Dark Green × × Дружба, Барон × Dark Green, Очарование × × Dark Green, позволила установить, что они характеризуются повышенным содержанием β-каротина как в сравнении с генотипами *hp-*

2^{dg}/hp-2^{dg}, так и *V/B*. Средний уровень β-каротина у таких генотипов за четыре года исследований составил 2,42 мг % (табл. 1). Выявлено, что в двойной гомозиготе *V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* сохраняется положительное влияние гена *hp-2^{dg}*

Таблица 2

Биохимические эффекты взаимодействия генов *hp-2^{dg}* и *V* (2005 г.)

Сорт, гибрид, линия	Генотип	Аскорбиновая кислота	β-каротин
		мг/%	
Гибридная комбинация (Dark Green × Дружба)			
Дружба	<i>V/B</i>	22,70 ± 0,35	1,21 ± 0,08
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	33,35 ± 0,42	0,55 ± 0,03
F ₁	<i>V+/B//hp-2^{dg}+/hp-2^{dg}</i>	25,67 ± 0,31	0,76 ± 0,04
F ₅ № 116 _{2/2}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	32,21 ± 0,41	—
F ₅ № 117 _{2/п}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	31,96 ± 0,19	2,81 ± 0,10
F ₅ № 117 _{1/2}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	41,87 ± 0,56	0,85 ± 0,06
F ₅ № 118 _{1/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	31,45 ± 0,36	1,80 ± 0,09
F ₅ № 119 _{1/2}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	30,76 ± 0,28	1,56 ± 0,07
F ₅ № 120 _{2/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	35,88 ± 0,37	1,52 ± 0,06
F ₅ № 120 _{1/п}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	37,02 ± 0,42	0,93 ± 0,04
F ₅ № 121 _{1/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	31,91 ± 0,67	1,50 ± 0,05
Среднее	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	34,13 ± 0,41	1,57 ± 0,07
Гибридная комбинация (Барон × Dark Green)			
Барон	<i>V/B</i>	23,21 ± 0,25	1,36 ± 0,05
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	33,35 ± 0,42	0,55 ± 0,03
F ₁	<i>V+/B//hp-2^{dg}+/hp-2^{dg}</i>	26,42 ± 0,32	0,82 ± 0,04
F ₄ № 276 _{2/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	36,74 ± 0,51	1,81 ± 0,07
F ₄ № 277 _{2/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	44,43 ± 0,67	2,62 ± 0,12
F ₄ № 278 _{2/4}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	31,04 ± 0,23	1,92 ± 0,11
F ₄ № 278 _{2/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	44,86 ± 0,61	2,60 ± 0,13
F ₄ № 278 _{2/4}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	37,02 ± 0,43	1,19 ± 0,08
F ₄ № 279 _{1/2}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	40,72 ± 0,51	2,23 ± 0,09
F ₄ № 280 _{1/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	42,01 ± 0,39	2,62 ± 0,11
F ₄ № 281 _{1/2}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	38,45 ± 0,32	1,41 ± 0,06
Среднее	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	39,41 ± 0,46	2,05 ± 0,10
Гибридная комбинация (Очарование × Dark Green)			
Очарование	<i>V/B</i>	18,28 ± 0,19	0,61 ± 0,04
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	33,35 ± 0,42	0,55 ± 0,03
F ₁	<i>V+/B//hp-2^{dg}+/hp-2^{dg}</i>	19,27 ± 0,21	0,48 ± 0,03
F ₃ № 406 _{1/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	56,39 ± 0,81	0,84 ± 0,06
F ₃ № 406 _{2/1}	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	43,43 ± 0,46	1,95 ± 0,09
F ₃ № 424 _{2/1}	<i>V/B</i>	16,38 ± 0,24	0,44 ± 0,02
Среднее	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	49,91 ± 0,39	1,40 ± 0,08
Общее среднее	<i>V/B</i>	21,40 ± 0,26	1,06 ± 0,05
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	33,35 ± 0,42	0,55 ± 0,03
	<i>V+/B//hp-2^{dg}+/hp-2^{dg}</i>	23,77 ± 0,28	0,69 ± 0,04
	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	41,15 ± 0,50	1,67 ± 0,08
Лимиты	<i>V/B</i>	16,38–23,21	0,4–1,36
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	—	—
	<i>V/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	30,76–56,39	0,84–2,81

на содержание аскорбиновой кислоты и отрицательное по уровню титруемых кислот. Средний уровень аскорбиновой кислоты в плодах линий с генотипом составил 33,97 мг/%, что значительно превышает уровень (19,95 мг/%) обычных красноплодных сортов, т.е. не содержащих генов повышенной пигментации. Кислотность дигомозиготных генотипов была более выражена, чем у гомозигот *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*. По содержанию сухого вещества и сахаров не выявлено различий между анализируемыми генотипами, поэтому упомянутые показатели в этой и последующих таблицах не приводятся.

Анализируемые биохимические показатели имели значительную вариабельность как по годам, так и в пределах линий одного генотипа. Это свидетельствует о том, что биосинтез каждого из этих признаков представляет собой результат действия сложной генетической системы, состоящей из взаимодействующих в онтогенезе аллельных и неаллельных генов, которые тесно связаны в реализации с окружающей средой, т.е. экологическими факторами. В данном случае экспериментально созданная альтернативная (качественная) модель генов, представленная дигомозиготой *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*, призвана лишь модифицировать проявление тех или иных биохимических показателей в определенном направлении.

Анализируя колебания значений признаков по годам, выявили, что в условиях 2006 г. селекционные линии с генотипом *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* обеспечили более высокое содержание β -каротина в среднем на уровне 2,38 мг/кг по сравнению 1,67 мг/кг в 2005 г., имея, таким образом, среднее превышение в 42 % (табл. 2 и 3). Аналогичная тенденция наблюдалась и у генотипов *B/B* и *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* — с превышением на 36 и 34 % соответственно. Анализируя метеорологические данные 2006 г., выявили, что этот год характеризовался более прохладным вегетационным периодом с суммой активных температур 1830 °С и обильным выпадением осадков в период массового созревания плодов. В 2005 г. сумма активных температур была существенно выше — 2050 °С. В период налива и созревания плодов наблюдались более высокие дневные температуры. В этом отношении наши данные согласуются с данными Выродовой [17], которая показала, что в крас-

ноплодных формах томата, созревших в прохладное лето 1973 г. (сумма активных температур — 2266 °С), содержание ликопина было выше, чем в жаркое лето 1974 г. (сумма активных температур — 2490 °С).

Учитывая тот факт, что ликопин является предшественником в цепи биогенеза β -каротина с участием гена *B*, вполне очевидна их тесная зависимость. Это полностью подтверждают исследования Томес [18], который выявил ингибирование биосинтеза β -каротина в плодах растений с генотипом *B/B* при созревании плодов в условиях повышения температуры от 23,5 до 32,0 °С.

Положительные особенности межгенного взаимодействия генов *B* и *hp-2^{dg}* в отношении повышенного содержания β -каротина и аскорбиновой кислоты позволяют рекомендовать дигомозиготу *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* в качестве альтернативной генетической системы для селекционных проектов по созданию новых сортов и гибридов томата с повышенным качеством плодов.

Наиболее высокая эффективность для создания ценных селекционных форм выявлена у гибридных комбинаций Барон \times Dark Green и Очарование \times Dark Green. На их основе созданы селекционные линии № 206 $1/3$ F₅ (Барон \times Dark Green) с содержанием β -каротина 4,33 мг/кг, аскорбиновой кислоты 44,29 мг/кг, и № 211 $1/1$ F₄ (Очарование \times Dark Green) — 4,79 и 36,44 мг/кг соответственно (табл. 3). При этом выявлено, что между содержанием β -каротина в плодах исходных форм и эффективностью отбора, т.е. проявлением признака у созданных селекционных линий, тесной зависимости не существует. Так, в наших исследованиях наиболее высококаротиновые линии со средним содержанием β -каротина 3,16 мг/кг созданы на основе сорта Очарование, который характеризовался самым низким его содержанием (0,93 мг/кг) по сравнению с сортами Дружба (1,81 мг/кг) и Барон (1,41 мг/кг) [19]. Это вполне закономерный факт, поскольку биосинтез β -каротина регулируется генами-модификаторами типа *Mo B*.

Анализ характера формообразования фенотипа дигомозиготы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* показал важность того факта, что содержание β -каротина в ее плодах существенно превышает

Биохимические эффекты взаимодействия генов *hp-2^{dg}* и *B* (2006 г.)

Сорт, гибрид, линия	Генотип	Кислотность, %	Аскорбиновая кислота	β -каротин
			мг/%	
Гибридная комбинация (Dark Green \times Дружба)				
Дружба	<i>B/B</i>	0,48 \pm 0,01	21,98 \pm 0,31	1,81 \pm 0,03
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,45 \pm 0,01	30,87 \pm 0,45	0,72 \pm 0,02
F ₆ № 195 _{1/2}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,47 \pm 0,02	31,15 \pm 0,51	1,03 \pm 0,02
F ₆ № 196 _{1/n}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,01	30,86 \pm 0,37	1,42 \pm 0,02
Среднее	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,44 \pm 0,01	31,01 \pm 0,44	1,23 \pm 0,02
Гибридная комбинация (Барон \times Dark Green)				
Барон	<i>B/B</i>	0,48 \pm 0,02	16,41 \pm 0,24	1,41 \pm 0,03
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,45 \pm 0,01	30,87 \pm 0,34	0,72 \pm 0,02
F ₅ № 203 _{1/2}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,37 \pm 0,01	46,63 \pm 0,55	1,31 \pm 0,03
F ₅ № 203 _{1/3}	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,35 \pm 0,01	44,88 \pm 0,61	0,95 \pm 0,03
F ₅ № 204 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,49 \pm 0,02	33,79 \pm 0,28	1,54 \pm 0,04
F ₅ № 204 _{2/n}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,02	25,04 \pm 0,23	3,85 \pm 0,06
F ₅ № 205 _{1/3}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,01	50,79 \pm 0,51	3,16 \pm 0,04
F ₅ № 205 _{2/3}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,56 \pm 0,03	29,74 \pm 0,32	2,45 \pm 0,05
F ₅ № 205 _{2/n}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,01	36,17 \pm 0,38	2,36 \pm 0,03
F ₅ № 205 _{1/4}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,46 \pm 0,02	38,73 \pm 0,46	2,32 \pm 0,02
F ₅ № 205 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,01	40,53 \pm 0,51	3,05 \pm 0,04
F ₅ № 205 _{2/2}	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,39 \pm 0,01	39,57 \pm 0,41	0,83 \pm 0,02
F ₅ № 206 _{2/n}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,01	38,11 \pm 0,43	3,20 \pm 0,06
F ₅ № 206 _{1/3/3}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,36 \pm 0,01	44,29 \pm 0,57	4,33 \pm 0,06
F ₅ № 206 _{2/3}	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,37 \pm 0,01	38,43 \pm 0,50	0,45 \pm 0,01
Среднее	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,42 \pm 0,02	38,38 \pm 0,37	2,76 \pm 0,04
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,39 \pm 0,01	38,44 \pm 0,46	0,74 \pm 0,02
Гибридная комбинация (Очарование \times Dark Green)				
Очарование	<i>B/B</i>	0,45 \pm 0,01	17,10 \pm 0,21	0,93 \pm 0,03
Dark Green	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,45 \pm 0,01	30,87 \pm 0,36	0,72 \pm 0,02
F ₄ № 208 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,36 \pm 0,01	40,16 \pm 0,53	3,32 \pm 0,05
F ₄ № 209 _{1/2}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,33 \pm 0,01	37,00 \pm 0,61	2,33 \pm 0,04
F ₄ № 211 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,29 \pm 0,01	36,44 \pm 0,44	4,79 \pm 0,06
F ₄ № 213 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,39 \pm 0,01	29,02 \pm 0,38	2,19 \pm 0,03
Среднее	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,34 \pm 0,01	35,66 \pm 0,49	3,16 \pm 0,05
Общее среднее	<i>B/B</i>	0,47 \pm 0,01	18,50 \pm 0,25	1,38 \pm 0,03
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,43 \pm 0,01	33,39 \pm 0,42	0,73 \pm 0,02
	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,40 \pm 0,02	35,02 \pm 0,43	2,38 \pm 0,04
Лимиты	<i>B/B</i>	0,45–0,48	16,41–21,98	0,93–1,81
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,35–0,39	30,87–44,88	0,45–0,95
	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	0,29–0,56	25,04–50,79	1,03–4,79

суммарный эффект простых гомозигот *B/B* и *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*. Это указывает на аддитивный тип неаллельного их взаимодействия (эффект усиления) с проявлением эффекта сверхэкспрессивности. Такие гены не являются полимер-

ными (множественными), однако, воздействуя на фенотипическое проявление одного и того же признака (содержание β -каротина), они взаимодействуют полимерно, т.е. аддитивно с проявлением более выраженного суммарного

■ **Эффекты межгенного взаимодействия гена повышенной пигментации *hp-2^{dg}* (*high pigment-2 dark green*)** ■

эффекта. Ген *B* способствует повышению уровня β -каротина в среднем до уровня 0,97 мг/%, ген *hp-2^{dg}* — до 0,59 мг/%, а их дигомозигота *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* — до 2,42 мг/%, что выше суммарного эффекта на 0,86 мг/%, или 55 % (табл. 1). На фоне незначительного содержания β -каротина (0,12 мг/% [19]) в плодах обычных красноплодных сортов томата, которые не содержат гены, активизирующие биогенез β -каротина, разница в 0,86 мг/% является достаточно существенной и предполагает определенные пути образования, которые будут рассмотрены далее.

Экспериментальные данные показывают, что индивидуальные превышения между пока-

зателями гомозигот и дигомозигот достаточно вариабельны (табл. 2 и 3), и усредненный показатель в этом отношении весьма условен даже в пределах одной комбинации скрещивания. Однако однозначным является тот факт, что гены *B* и *hp-2^{dg}* при взаимодействии активизируют биосинтез β -каротина и в этом отношении представляют важный практический интерес для селекции.

В процессе изучения морфобиологических показателей и продуктивности созданных линий выявлено, что дигомозиготные генотипы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* характеризуются менее выраженной генетической депрессией, обуслов-

Таблица 4

Биохимические показатели изогенных линий гибридной комбинации F₅ (Барон × Dark Green)

Линия	Ген	Сухое вещество	Сахар	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
203 _{1/2}	<i>B, hp-2^{dg}</i>	4,23 ± 0,05	3,18 ± 0,03	0,37 ± 0,01	46,63 ± 0,51	1,31 ± 0,04
203 _{1/3}	<i>hp-2^{dg}</i>	4,23 ± 0,04	3,21 ± 0,02	0,35 ± 0,01	44,88 ± 0,46	0,95 ± 0,02
205 _{1/1}	<i>B, hp-2^{dg}</i>	4,23 ± 0,06	3,25 ± 0,03	0,40 ± 0,02	40,53 ± 0,32	3,05 ± 0,06
205 _{2/2}	<i>hp-2^{dg}</i>	4,28 ± 0,06	3,28 ± 0,04	0,39 ± 0,01	39,57 ± 0,56	0,83 ± 0,03
206 _{1/3}	<i>B, hp-2^{dg}</i>	3,93 ± 0,05	3,33 ± 0,02	0,36 ± 0,01	44,29 ± 0,36	4,33 ± 0,06
206 _{2/3}	<i>hp-2^{dg}</i>	4,08 ± 0,06	3,44 ± 0,04	0,38 ± 0,01	38,43 ± 0,28	0,45 ± 0,01
Среднее для <i>B, hp-2^{dg}</i>		4,13 ± 0,05	3,25 ± 0,03	0,38 ± 0,01	43,82 ± 0,39	2,90 ± 0,05
Среднее для <i>hp-2^{dg}</i>		4,20 ± 0,05	3,31 ± 0,03	0,37 ± 0,01	40,96 ± 0,43	0,74 ± 0,02

Таблица 5

Биохимические показатели различных генотипов гибридной комбинации F₃ {F₃ (Dark Green × Дружба) (F₄ [(Княжич × Liberator) × Мл 638]}

Линия	Ген	Сухое вещество	Сахар	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
320 _{1/2}	<i>B/B//gs/gs</i>	4,11 ± 0,06	2,38 ± 0,04	0,41 ± 0,01	20,57 ± 0,30	1,33 ± 0,03
320 _{1/3}	<i>B/B//gs/gs</i>	4,81 ± 0,07	3,52 ± 0,04	0,34 ± 0,01	28,11 ± 0,41	1,18 ± 0,03
325 _{2/1}	<i>B+/B//gs/gs</i>	4,81 ± 0,05	2,75 ± 0,03	0,46 ± 0,02	23,18 ± 0,19	0,60 ± 0,02
377 _{1/4}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,46 ± 0,06	2,95 ± 0,03	0,38 ± 0,1	43,47 ± 0,44	6,00 ± 0,07
377 _{1/1}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	3,83 ± 0,04	3,23 ± 0,02	0,38 ± 0,2	39,39 ± 0,51	4,09 ± 0,05
378 _{2/3}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,87 ± 0,09	2,77 ± 0,06	0,36 ± 0,01	37,66 ± 0,33	5,85 ± 0,04
377 _{1/3}	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	4,03 ± 0,06	3,28 ± 0,03	0,28 ± 0,01	37,03 ± 0,45	3,48 ± 0,04
376 _{1/п}	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,87 ± 0,05	2,75 ± 0,04	0,50 ± 0,02	27,85 ± 0,36	—
376 _{1/3}	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,87 ± 0,07	2,75 ± 0,02	0,32 ± 0,01	24,72 ± 0,31	2,58 ± 0,03
Среднее	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,39 ± 0,06	2,98 ± 0,04	0,37 ± 0,01	40,17 ± 0,43	5,31 ± 0,0
	<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	4,03 ± 0,06	3,28 ± 0,03	0,28 ± 0,01	37,03 ± 0,45	3,48 ± 0,05
	<i>B/B//gs/gs</i>	4,46 ± 0,07	2,95 ± 0,04	0,38 ± 0,01	24,34 ± 0,36	1,26 ± 0,03
	<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/gs</i>	4,87 ± 0,06	2,75 ± 0,03	0,41 ± 0,01	26,28 ± 0,34	2,58 ± 0,03

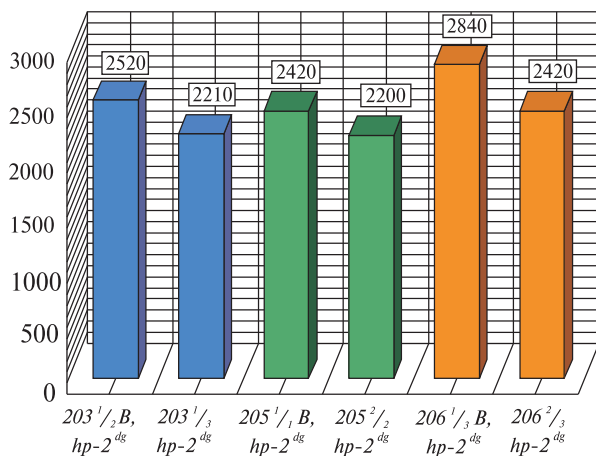


Рис. 1. Уровень продуктивности изогенных линий (по вертикали, г/растение)



Рис. 2. Селекционная линия № 533-05 F₄ (Барон × Dark Green) (*B, hp-2^{dg}*)



Рис. 3. Селекционная линия № 277-05 F₄ (Барон × Dark Green) (*B, hp-2^{dg}*)

ленной присутствием гена *hp-2^{dg}*, по сравнению с его простыми гомозиготами (*hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*). Это способствовало повышению уровня про-



Рис. 4. Оранжево-красная мякоть плода селекционной линии № 279-05 F₄ (Барон × Dark Green) (*B, hp-2^{dg}*)



Рис. 5. Красно-оранжевая мякоть плода линии № 377-1/1 06 F₃ {[F₃ (Dark Green × Дружба) × F₄ [(Княжич × Liberator) × Мл-638]} (*B, hp-2^{dg}, gs, u*)

дуктивности таких растений и их скороспелости (продолжительность вегетационного периода от массовых всходов до начала созревания) (табл. 1). Эффект ослабления депрессивного влияния гена *hp-2^{dg}* присутствием гена *B* является достаточно веским фактом, подтверждающим возможность эффективного использования генов повышенной пигментации плода в создании высококароотиновых форм томата. Возможно выявленная особенность имеет связь и с эффектом более быстрого сбраживания семян в пульпе оранжевоплодных (с геном *B*) сортов. Так, в исследованиях Смаглий и др. [20] выявлено, что при сбраживании семена оранжевоплодных сортов томата начинают прорастать уже через 8 ч, тогда как у красноплодных форм прорастание начинается лишь через 25 ч. В обоих случаях имеет место сходный эффект ферментативной стимуляции ростовых процес-

сов, природа которого не раскрыта, однако однозначно связана с экспрессией гена *B*.

В процессе селекционной работы среди генетически выравненных (гомозиготных) селекционных линий F₅–F₆ различных генотипов нами неоднократно были выделены единичные изогенные растения, характеризующиеся различием по какому-либо моногенному эффекту, с полностью идентичным проявлением комплекса других морфобиологических показателей. Так, среди гибридов F₅ (Барон × Dark Green) у трех различных линий с генотипом *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* выделены единичные растения с красными плодами, т.е. без гена *B*. Биохимическая оценка выделенных изогенных линий подтвердила их высокую выравненность по содержанию сухого вещества, сахаров, титруемых кислот, аскорбиновой кислоты, на которые ген *B* не оказывает влияния (табл. 4). По содержанию β-каротина линии с генотипом *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* имели превышение в среднем на 392 %, при этом вклад гена *hp-2^{dg}* составлял 75 %.

У изогенных линий более высокую продуктивность имели растения с генотипом *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* (рис. 1), что свидетельствует о более стабильном уровне их мощности и жизнеспособности. Это подтверждает ранее выявленный факт менее выраженного депрессивного воздействия гена *hp-2^{dg}* в присутствии гена *B*.

Непредсказуемо высокий уровень β-каротина выявлен у селекционных форм F₃ {F₃ (Dark Green × Дружба) (F₄ [(Княжич × Liberator) × Мл-638]}, содержащих тригомозиготу *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s. Несмотря на установленную в наших исследованиях [13] биохимическую «пассивность» гена *gs* относительно изучаемых биохимических компонентов, в комбинации с генами *B* и *dg* он проявляет экспрессивность на активизацию биосинтеза β-каротина. Тройная гомозигота выявила наиболее высокий уровень β-каротина 5,31 мг/% как по сравнению с дигомозиготой *dg/dg//gs/g*s – 2,58 мг/%, так и с *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* – 3,48 мг/% (табл. 5).

Биохимические эффекты дигомозиготы *B/B//gs/g*s гибридной популяции F₃ {F₄ [(Княжич × Liberator) × Мл-638] × CLN 2070B} оказались менее эффективными, чем дигомозиготы *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s (табл. 5). Это свидетельствует о том, что основной эффект существенного увеличения содержания β-каротина в пло-

дах тригомозиготы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s обеспечивает не взаимодействие генов *B* и *gs*, а *hp-2^{dg}* и *gs*. Данное предположение подтверждено и высоким (2,58 мг/%) содержанием β-каротина в плодах дигомозиготы *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s.

Визуально рекомбинантные генотипы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* отличались от обычных высококаротиновых форм с генотипом *B/B* более насыщенной оранжевой окраской плода (рис. 2–4). Генотипы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* без наличия гена *u* характеризовались проявлением темно-коричневатого пятна возле плодоножки (рис. 2), что обусловлено проявлением повышенного содержания хлорофилла и антоциана. Присутствие гена *gs* у тригомозигот *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s обнаруживалось по слабым золотистым полосам на эпидермисе плода (рис. 5). Генотипы *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}//gs/g*s более четко идентифицируются в фазе молочной спелости плодов, при этом они характеризовались более выраженным красным оттенком.

Выводы. При взаимодействии генов *B* и *hp-2^{dg}* в дигомозиготе содержание β-каротина существенно превышает суммарный эффект этих генов, что указывает на аддитивный тип неаллельного взаимодействия с проявлением сверхэкспрессивности. При этом в дигомозиготе удается сочетать повышенное содержания β-каротина (на уровне 2,42 мг %) и аскорбиновой кислоты (33,97 мг/%), что позволяет рекомендовать ее в качестве альтернативной генетической системы для практического использования в селекционных проектах, направленных на создание сортов/гибридов с высокими диетическими и лечебно-профилактическими свойствами.

A.V. Kuzemenskiy

EFFECTS OF INTERGENIC INTERACTION OF THE HIGH PIGMENTATION *hp-2^{dg}* (*HIGH PIGMENT-2 DARK GREEN*) WITH THE GENE *B* (*BETA-CAROTENE*) IN TOMATO

It was shown that during intergenic interaction of genes *hp-2^{dg}* and *B* in dihomozygote an additive factor is formed activating biogenesis of β-carotene in tomato fruits. In the genotype *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* there is preserved the positive effects of the gene *hp-2^{dg}* on the content of ascorbic acid and the negative one on the content of titrated acids. With this stabilization of the gene *hp-2^{dg}* genetic depression is observed, which is manifested in the increased productivity of *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*-genotypes.

О.В. Кузьменський

ЕФЕКТИ МІЖГЕННОЇ ВЗАЄМОДІЇ ГЕНА ПІДВИЩЕНОЇ ПІГМЕНТАЦІЇ *hp-2^{dg}* (*HIGH PIGMENT-2 DARK GREEN*) З ГЕНОМ *B* (*BETA-CAROTENE*) У ТОМАТА

Показано, що при міжгенній взаємодії генів *hp-2^{dg}* і *B* у дигомозиготі формується адитивний фактор, який активізує біогенез β -каротину в плодах томата. У генотипу *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* зберігається позитивний вплив гена *hp-2^{dg}* на вміст аскорбінової кислоти і негативний вплив на вміст кислот, що титруються. При цьому спостерігається стабілізація генетичної депресії гена *hp-2^{dg}*, що проявляється у підвищенні продуктивності *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*-генотипів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Levin I., Frankel P., Gilboa N., Tanny S., Lalazar A. The tomato dark green mutation is a novel allele of the tomato homolog of the DEETIOLATED1 gene // *Theor. Appl. Genet.* – 2003. – **106**. – P. 454–460.
2. Mochizuki T., Kamimura S. Inheritance of vitamin C content and relations to other characters in crosses between *hp* and *og* varieties of tomatoes // *Eucarpis, Tomato working group. A new in tomato breeding.* – Wageningen, 1984. – P. 8–13.
3. Wann E.V., Jordan E.L., Pressey R., Lyon B.G. Effect of mutant genotype *hp*, *og^c* and *dg*, *og^c* on tomato fruit quality // *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* – 1985. – **110**. – P. 212–215.
4. Mochizuki T. Studies on lines with high-pigment genes as high vitamin C and carotenoid sources in tomato breeding // *Bull. Veg. Orgaan. Grops Res. Stn. Ser. A.* – 1995. – № 10. – P. 55–139.
5. Bino R.J., Ric de Vos C.H., Lieberman M., Hall R.D., Bovy A., Jonker H.H., Tikunov Y., Lommen A., Moco S., Levin I. The light-hyperresponsive *high pigment-2^{dg}* mutation of tomato: alterations in the fruit metabolome // *New Phytologist.* – 2005. – **166**, № 2. – P. 427–438.
6. Pters J.L., Tuinen A., Adamse P., Kendrick R.E., Koornneef M. High pigment mutants of tomato exhibit high sensitivity for phytochrome action // *Plantphysiol.* – 1989. – № 134. – P. 661–666.
7. Mustilli A.C., Fenri F., Ciliento R., Alfano F., Bowler C. Phenotype of the tomato high pigment-2 mutant is caused by a mutation in the tomato homolog of DEETIOLATED 1 // *Plant Cell.* – 1999. – **11**. – P. 145–157.
8. Lieberman M., Segev O., Gilboa N., Lalazar A., Levin I.

The tomato homolog of the gene encoding UV DAMAGED DNA BINDING protein 1 (DDB1) underlined as the gene that causes the *high pigment-1* mutant phenotype // *Theor. Appl. Genet.* – 2004. – **108**. – P. 1574–1581.

9. Liu Y.S., Roof S., Ye Z.B., Barry C., Van Tuinen A., Vrebalov J., Bowler C., Giovannoni J. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 2004. – **101**. – P. 9897–9902.
10. Stevens M.A., Rick C.M. *Genetics and Breeding.* – New York : Chapman & Hall, 1986. – 240 p.
11. Konsler T.R. Three mutants appear in «Manapal» tomato // *HortScience.* – 1973. – **8**. – P. 331–333.
12. Yen H.C., Shelton B.A., Howard L.R., Lee S., Vrebalov J., Giovannoni J.J. The tomato *high-pigment (hp)* locus maps to chromosome 2 and influences plastome copy number and fruit quality // *Theor. Appl. Genet.* – 1997. – **95**. – P. 1069–1079.
13. Кузьменский А.В. Взаимодействие мутантных генів, активізуючих біогенез β -каротина в плодах томата // *Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів.* – 2005. – **3**, № 1/2. – С. 86–91.
14. Кузьменський О.В. Способи поліпшення хіміко-технологічних ознак плодів гібридів томата першого покоління // *Вісн. аграр. науки.* – 2005. – № 11. – С. 54–58.
15. *Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта.* – М.: ВАСХНИИЛ, 1986. – 112 с.
16. Доспехов Б.А. *Методика полевого опыта.* – М.: Колос, 1979. – 416 с.
17. Вьророва А.П. *Изменчивость и наследование содержания каротиноидов в плодах томатов : Автореф. дис.... канд.биол. наук.* – Л., 1976. – 24 с.
18. Tomes M.L. Temperature inhibition of carotene synthesis in tomato // *Bot. Gaz.* – 1963. – **124**. – P. 1–12.
19. Кузьменский А.В. Использование генів окраски плода в селекции томата // *Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. Біологія.* – 2006. – Вип. 2 (9). – С. 79–87.
20. Смаглій О.Ф., Горобець В.М., Буджерак А.І., Бистрицький В.С., Хранійчук П.П., Мартенюк М.В. Рекомендації по технології вирощування екологічно безпечних плодів оранжевоплідного томата в різних агроєкологічних умовах України. – Житомир : Друк, 1999. – 24 с.

Поступила 13.06.07