

УДК 635.64:575.2:631.527

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ *GF* (*GREEN FLESH*) И *B* (*BETA-CAROTENE*), МОДИФИЦИРУЮЩИХ БИОГЕНЕЗ β -КАРОТИНА

А.В. КУЗЬМЕНСКИЙ

Институт овощеводства и бахчеводства УААН
Украина, 62478, п/о Селекционное Харьковского р-на Харьковской обл.

*Показано, что при межгенном взаимодействии в дигомозиготе $B/B//gf/gf$ наблюдается промежуточный эффект – наличие хлорофилла и уменьшение количества β -каротина с формированием нового фенотипа – грязно-оранжевой окраски плода. При этом уровень хлорофилла, детерминируемый геном *gf*, сильно нивелируется генетическим фоном. По содержанию β -каротина в дигомозиготе наблюдается модифицирующее действие со стороны гена *gf*, что приводит к его снижению в среднем на 25%.*

Ключевые слова: томат, межгенное взаимодействие, фенотип, дигомозигота, β -каротин, хлорофилл, плод.

Введение. Несмотря на то, что большинство генов, детерминирующих окраску плода томата, были открыты еще в 60–70-е годы XX столетия, их биохимические эффекты изучены не полностью. Примером является мутация *green flesh* (ген *gf*), которая определяет темную, фиолетово-коричневатую окраску плода. Основным фенотипическим эффектом мутации *gf* является неполное превращение хлорофилла при созревании плодов, что связано с хромoplast-пластидной конверсией [1, 2]. Это способствует повышению содержания хлорофилла в зрелых плодах *gf*-генотипов, в то время как у обычных красноплодных форм при созревании хлорофилл из мякоти плода исчезает полностью. В литературе имеется двоякое мнение в отношении влияния гена *gf* на биохимическую ценность плодов. Так, согласно данным А.А. Жученко [3], содержание каротиноидов в фиолетово-коричневатых плодах имеет ген *gf* ниже, чем у обычных красных, тогда как Ю.И. Авдеев [4] высказывает противоположную точку зрения, отмечая, что линии с геном *gf* характеризуются более повышенным содержанием ликопина и β -каротина.

Ранее в наших исследованиях [5] выявлено, что ген *gf* оказывает ингибирующее действие на биогенез β -каротина без видимого влияния на такие биохимические показатели, как содержание сухого вещества,

© А.В. КУЗЬМЕНСКИЙ, 2008

сахаров, титруемых кислот и аскорбиновой кислоты. Для изучения влияния гена *gf* на содержание каротиноидов было проведено изучение его взаимодействия с геном *B*, активизирующим биогенез β -каротина. При межгенном взаимодействии в двойной гомозиготе *B/B//gf/gf* наблюдается незначительная репрессия образования β -каротина со стороны гена *gf*, что приводит к снижению его содержания в среднем на 25 %.

Целью настоящих исследований было выявление особенностей влияния межгенного взаимодействия генов *gf* (*green flesh*) и *B* (*Beta-carotene*) на процесс биогенеза β -каротина в плодах томата.

Материалы и методы

В качестве источников гена *B* были использованы сорта Дружба (*B/B*) и Очарование (*B/B*). Источниками мутации *gf* послужили сорт Мавр (*gf/gf*) (рис. 1) и сорт Черные (*gf/gf*) (рис. 2). Для изучения особенностей межгенного взаимодействия генов *B* и *gf* проведены парные скрещивания: Очарование (*B/B*) \times Чёрные (*gf/gf*) и Дружба (*B/B*) \times Мавр (*gf/gf*).

В расщепляющихся популяциях второго и третьего поколений (F_{2-3}) от-



Рис. 1. Плоды сорта Мавр (*gf, o*)

бирали генотипы, сочетающие признак оранжевоплодности (ген *B*) с темно-коричневатой пигментацией зрелого плода (ген *gf*). 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 [6]. Биохимические анализы на содержание в плодах томата сухого вещества, сахаров, аскорбиновой кислоты, титруемых кислот, β -каротина, β -каротина, ликопина, хлорофилла, пектина, клетчатки проводили согласно общепринятым методикам в аккредитованной лаборатории аналитических измерений ИОБ УААН под руководством кандидата с.-х. наук В.Е. Барсуковой.

Результаты исследований обрабатывали по методике Доспехова [7].

Результаты и обсуждение

Изучение биохимических эффектов гомозигот *B/B*, *gf/gf* и *B/B//gf/gf* подтвердило тот факт, что гены *B* и *gf* оказывают противоположное влияние на содержание β -каротина и ликопина, что и определяет эффекты их межгенного



Рис. 2. Плоды сорта Черные (*gf, f*)

Взаимодействие генов *gf* (green flesh) и *B* (Beta-carotene), модифицирующих...

взаимодействия (табл. 1). Такие биохимические показатели, как содержание растворимого сухого вещества, сахаров, титруемых кислот и аскорбиновой кислоты, независимо от генотипа (*B/B*, *gf/gf*, *B/B//gf/gf*), оставались практически неизменными и имели близкие как средние, так и лимитные значения.

В то же время, существенные отклонения по содержанию сухого вещества, сахаров и β-каротина были установлены у линий комбинации

Дружба х Мавр, которые отличались мелкоплодностью, возможно, за счет наличия в родословной сорта Мавр полукультурной разновидности. Выявлено, что при постепенном увеличении массы плода наблюдается значительное снижение биохимических показателей плодов (табл. 2). Природа данного явления изучена недостаточно. Однако очевидно, что наиболее существенной является высокая сопряженность массы плода и содержания са-

Таблица 1. Биохимические эффекты генов *B* и *gf* и их взаимодействия*

Показатель	Генотип	Сухое вещество	Сахар	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β-каротин
		%			мг/%	
2004 г.						
Средняя	<i>gf/gf</i>	4,99±0,12	3,65±0,04	0,35±0,02	20,69±0,32	0,10±0,01
	<i>B/B</i>	4,95±0,11	3,44±0,06	0,39±0,02	19,32±0,23	0,87±0,03
	<i>B/B//gf/gf</i>	5,01±0,14	3,66±0,07	0,41±0,01	19,35±0,37	0,66±0,02
Лимиты	<i>gf/gf</i>	4,80-5,35	3,06-4,14	0,21-0,47	16,15-27,34	0,06-0,14
	<i>B/B</i>	4,45-5,36	3,13-3,64	0,28-0,47	15,12-23,70	0,78-0,96
	<i>B/B//gf/gf</i>	4,80-5,30	3,44-3,83	0,29-0,55	14,47-27,60	0,48-0,89
2005 г.						
Средняя	<i>gf/gf</i>	4,46±0,16	3,45±0,05	0,39±0,01	21,18±0,24	0,10±0,01
	<i>B/B</i>	4,87±0,08	3,43±0,07	0,40±0,02	20,51±0,44	0,95±0,02
	<i>B/B//gf/gf</i>	4,78±0,10	3,52±0,12	0,39±0,02	26,59±0,63	0,60±0,01
Лимиты	<i>gf/gf</i>	3,86-4,45	2,99-3,62	0,29-0,48	17,42-23,55	0,00-0,15
	<i>B/B</i>	4,56-5,50	3,23-3,69	0,34-0,48	18,28-22,70	0,54-1,21
	<i>B/B//gf/gf</i>	4,46-5,55	2,91-3,90	0,31-0,48	18,73-32,87	0,54-0,70
2006 г.						
Средняя	<i>gf/gf</i>	4,35±0,07	3,19±0,07	0,43±0,02	16,50±0,18	0,15±0,01
	<i>B/B</i>	4,57±0,12	3,21±0,09	0,38±0,01	20,61±0,29	1,51±0,03
	<i>B/B//gf/gf</i>	4,31±0,15	2,93±0,10	0,42±0,01	19,84±0,36	1,16±0,04
Лимиты	<i>gf/gf</i>	3,61-4,77	2,63-3,48	0,37-0,54	12,57-20,59	0,06-0,28
	<i>B/B</i>	3,97-4,93	2,65-3,57	0,36-0,41	17,10-21,98	0,93-1,81
	<i>B/B//gf/gf</i>	3,96-4,96	2,51-3,60	0,36-0,53	13,44-29,97	0,72-1,33
2004-2006 гг.						
Средняя	<i>gf/gf</i>	4,60±0,12	3,43±0,05	0,39±0,02	19,46±0,25	0,12±0,01
	<i>B/B</i>	4,80±0,10	3,36±0,07	0,39±0,02	20,15±0,32	1,11±0,02
	<i>B/B//gf/gf</i>	4,70±0,13	3,37±0,10	0,41±0,01	21,93±0,45	0,81±0,02

Примечание: Для гибридных комбинаций Очарование (*B/B*) х Чёрные (*gf/gf*) и Дружба (*B/B*) х Мавр (*gf/gf*).

харов. Как свидетельствуют наши данные (см. табл. 2), при увеличении первого (в промежутке от 40 до 45 г) идет резкое снижение второго в среднем на 1,0 %. Таким образом, не исключено, что уровень массы плода 30–40 г является серьезным препятствием для дальнейшей интрогрессивной селекции в направлении улучшения качества плодов.

В процессе исследований также выявлено, что более мелкоплодные линии № 265 $1/5$ и $1/5$ F₄ (Дружба × Мавр) (*B, gf, o, j-2*) с уровнем β-каротина 1,50 и 1,32 мг/% более чем в два раза превышали его содержание у линии № 263 $1/2$ F₄ (Дружба × Мавр) (*B, gf, o, j-2*) с более крупными плодами. Таким образом, можно предположить влияние на фенотипическое проявление

изучаемых мутантных генов генов-модификаторов, наличие которых не исключено в геномах полукультурных разновидностей томата. С другой стороны, возможно, что уровень экспрессии генов, отвечающих за биогенез пигментов при дифференциации тканей (в частности, при развитии репродуктивных органов) – эволюционно закреплен и является стабильным, что и объясняет снижение их содержания при увеличении массы плодов.

У двойной дигомозиготы *B/B//gf/gf* прослеживается четкий эффект действия генов противоположной направленности, в результате которого происходит активизация процесса биогенеза β-каротина со стороны гена *B* и его последующая инактивация со стороны гена *gf*, что в сумме приводит к сниже-

Таблица 2. Изменчивость биохимических показателей и массы плода по годам у линий гибридной комбинации (Дружба × Мавр), (2004–2006 гг.)

Линия	Ген	Масса плода, г	Сухое вещество	Сахар	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β-каротин
			%			мг/%	
F ₃ № 458 $2/5^*$	<i>gf, o</i>	37±2	7,50±0,11	4,82±0,06	0,39±0,01	23,96±0,31	0,04±0,01
F ₄ № 262**		36±2	-	-	-	-	-
F ₅ № 157 $1/3^{***}$		47±3	4,77±0,07	3,48±0,04	0,37±0,01	12,57±0,18	0,00
F ₃ № 458 $2/2$	<i>B, gf, o, j-2</i>	46±2	7,50±0,09	4,88±0,07	0,32±0,01	26,29±0,24	0,49±0,01
F ₄ № 263 $1/2$		57±4	4,80±0,04	2,91±0,01	0,31±0,01	29,97±0,32	0,70±0,02
F ₅ № 158		-	-	-	-	-	-
F ₃ № 458 $1/9$	<i>B, gf, o</i>	52±3	6,00±0,06	3,83±0,03	0,35±0,01	19,68±0,41	0,87±0,02
F ₄ № 264 $1/3$		35±2	6,35±0,06	3,98±0,03	0,41±0,02	26,60±0,17	1,03±0,03
F ₅ № 159		49±1	4,96±0,04	3,60±0,02	0,38±0,01	24,12±0,31	1,95±0,04
F ₃ № 458 $2/4$	<i>B, gf, o, j-2</i>	47±2	-	-	-	-	-
F ₄ № 265 $1/3$		45±2	6,20±0,03	3,90±0,02	0,34±0,01	27,98±0,45	1,32±0,02
F ₄ № 265 $1/5$		52±1	5,55±0,09	3,56±0,03	0,31±0,01	22,94±0,36	1,50±0,03
F ₅ № 160 $2/4$		68±3	3,97±0,03	2,49±0,01	0,44±0,02	16,52±0,18	0,99±0,02
F ₃ № 458 $2/4$	<i>gf, o, j-2</i>	47±2	-	-	-	-	-
F ₄ № 265 $2/n$		48±2	4,80±0,03	2,99±0,02	0,29±0,01	23,55±0,27	0,49±0,01
F ₅ № 161 $2/1$		62±3	4,37±0,05	2,91±0,02	0,29±0,01	13,04±0,22	0,28±0,01

Примечание: Отборы по годам производились с одного наиболее продуктивного растения, при этом поколения F₃–F₅ являются последовательным процессом гомогенизации генотипа.

* F₃ — изучалось в 2004 г.; ** F₄ — в 2005 г.; *** F₅ — в 2006 г.

Взаимодействие генов *gf* (green flesh) и *B* (Beta-carotene), модифицирующих...

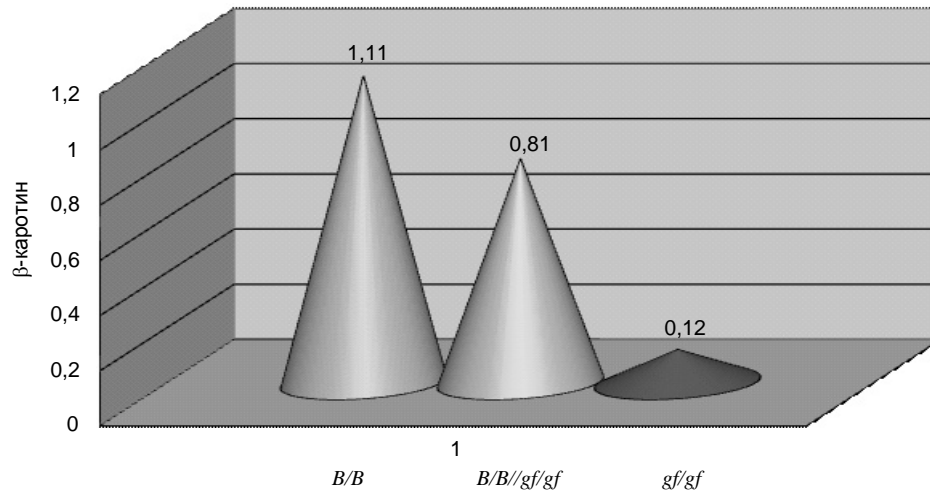


Рис. 3. Содержание β-каротина (мг/%) в плодах различных генотипов

нию содержания β-каротина в среднем на 22 % для генотипов гибридной комбинации (Очарование × Черные) и 26 % – комбинации (Дружба × Мавр), до среднего уровня 0,89 и 1,42 мг/% соответственно (см. табл. 1, рис. 3).

Ген *B*, активизирующий биогенез β-каротина, имеет более выраженное проявление в сравнении с геном *gf*, который лишь плейотропно действует на содержание β-каротина. Это создает впечатление фенотипического преобладания гена *B* как на визуальном уровне, где он детерминирует более выраженный эффект оранжевой окраски плода, так и на биохимическом, где он оказывает активизирующее влияние на биогенез β-каротина путем ресинтеза ликопина.

Плоды дигомозиготы *B/B//gf/gf* отличаются грязно- или коричневато-оранжевой окраской. Генотип *B/B//gf/gf* определяет новый фенотип окраски плода, характеризующийся своеобразным темным оттенком внешне оранжевых плодов. В данной гомозиготе наблюдается пример совместного проявления данных генов и их типичных эффектов. Ген *B* определяет увеличение β-каротина за счет ресинтеза ликопина, обеспечивая оранжевую окраску плода, а ген *gf* препятствует полной деградации хлорофилла в зрелых плодах, что придает им темно-коричневатый оттенок. Одновременно компенсируя содержание хлорофилла, ген *gf* приводит к снижению содержания β-каротина. При этом ген *gf* яв-

Таблица 3. Содержание пигментов в плодах различных генотипов томата (2005 г.)

Сорт, линия	Ген	мг/%				
		α-каротин	β-каротин	Ликопин	Хлорофилл	Антоциан
Черные	<i>gf</i>	0,023	0,08	0,69	0,40	0,37
Очарование	<i>B</i>	0,041	1,50	< 0,10	< 0,10	< 0,10
F ₄ (Очарование × Черные)	<i>gf</i>	0,021	0,12	1,20	0,35	0,32
F ₄ (Очарование × Черные)	<i>B, gf</i>	0,013	0,73	0,41	0,43	0,45

Примечание: Погрешность используемых методов ± 0,11 мг/%.

Таблица 4. Хозяйственно-ценные показатели селекционных линий томата с геном *gf* (2006 г)

Линия, сорт	Ген	Продуктивность, г/растения	Масса плода, г	Вегета- ционный период, дни	Сухое вещество	Сахар	Кислотность	Аскорбиновая кислота		β -каротин
								%		
F₅ (Очарование × Черные)										
Очарование	<i>B, u, j-2</i>	3444	82	105	3,97±0,05	2,65±0,03	0,41±0,01	17,10±0,21	0,93±0,03	
Черные	<i>gf, f</i>	2080	260	98	4,46±0,07	3,48±0,04	0,46±0,01	20,59±0,26	0,06±0,01	
147	<i>gf, B, u, f, j-2</i>	3008	280	102	5,06±0,06	3,31±0,03	0,41±0,01	14,00±0,27	0,84±0,03	
154	<i>gf, B, u</i>	4032	96	106	5,02±0,11	3,26±0,08	0,51±0,02	13,44±0,19	0,75±0,02	
149	<i>gf, u, y</i>	3172	61	98	4,00±0,09	2,82±0,07	0,51±0,02	16,10±0,21	0,25±0,01	
150	<i>gf, u</i>	3358	73	104	4,31±0,05	3,05±0,03	0,42±0,01	19,16±0,37	0,05±0,01	
156	<i>B, u</i>	3731	91	105	4,41±0,06	3,02±0,04	0,38±0,01	23,76±0,17	0,96±0,06	
НСР _{0,05}		240	6	3						
F₅ (Дружба × Мавр)										
Дружба	<i>B, u, j-2, sp, o</i>	1872	72	105	3,93±0,06	2,95±0,03	0,36±0,01	21,98±0,34	1,81±0,04	
Мавр	<i>gf, o</i>	2184	26	91	6,47±0,08	4,33±0,06	0,46±0,02	22,66±0,41	0,39±0,02	
158	<i>gf, B, u, j-2</i>	3060	45	99	5,80±0,05	4,03±0,02	0,36±0,01	23,97±0,35	1,33±0,04	
159	<i>gf, B, o</i>	2940	42	96	5,50±0,24	3,99±0,07	0,37±0,02	27,12±0,41	1,95±0,05	
157	<i>gf, o</i>	3328	64	98	4,77±0,04	3,48±0,02	0,37±0,02	12,57±0,30	0,05±0,01	
161	<i>gf, o, j-2</i>	3108	42	95	4,37±0,07	2,91±0,04	0,29±0,03	13,04±0,28	0,28±0,01	
P _{0,05}		340	4	3						

ляется гипостатичным по отношению к гену *B*, который подавляет проявление повышенного содержания ликопина. Таким образом, за счет объединения генотипов, ответственных за формирование двух дискретных фенотипов со сниженным содержанием ликопина, формируется третий совершенно новый фенотип – грязно-оранжевая окраска плода. Можно предположить, что уменьшение β-каротина в плодах линий, содержащих ген *gf*, является следствием неполного распада хлорофилла, который, по мнению некоторых исследователей [1, 2], сопровождает синтез каротиноидов. Хлорофилл как первичный пигмент является материалом для последующих превращений каротиноидов с образованием ликопина и β-каротина. То есть на биохимическом уровне гомозигота *B/B//gf/gf* имеет промежуточный эффект – наличие хлорофилла и уменьшение количества β-каротина. Как показали наши последующие исследования, уровень хлорофилла, детерминируемый геном *gf*, сильно нивелируется генетическим фоном. Это позволило нам получить генотипы *gf/gf* и *B/B//gf/gf*, существенно различающиеся по его содержанию, с проявлением менее выраженного темного *gf*-оттенка.

Выявлено, что повышение содержания β-каротина в плодах дигомозиготы *gf/gf//B/B* селекционных линий F₄ (Очарование × Черные) сопровождалось снижением содержания ликопина с 1,20 мг/% до 0,41 мг/% и β-каротина с 0,021 мг/% до 0,013 мг/% (табл. 3). По содержанию хлорофилла и антоциана существенных различий между гомозиготами *gf/gf* и *gf/gf//B/B* не выявлено.

В процессе исследований получены высокопродуктивные селекционные линии томата с генотипом *gf/gf* и

B/B//gf/gf (табл. 4). Среди линий гибридной комбинации Очарование × Черные следует выделить линию № 147 с набором генов *gf, B, u, f, j-2*, которая характеризуется крупными фасцированными плодами массой до 280 г и высокопродуктивную линию № 154 F₅ (Очарование × Черные) (*B, gf, u*). Выделена высокопродуктивная линия № 150 F₅ (Очарование × Черные) (*gf, u*), отличающаяся темно-красной окраской плода без выраженной хлорофилльной зеленоватой пигментации мякоти плода.

Среди линий комбинации Дружба × Мавр выделилась линия № 159, характеризующаяся высоким содержанием сухого вещества и β-каротина, с массой плода 42 г. Отбор производился в направлении стабилизации равномерной без выраженных вкраплений хлорофилла окраски плода, что позволило получить линии с более привлекательной окраской плода. Выделенные линии пригодны для практического использования как сорта декоративного типа.

Выводы

Выявлено, что при межгенном взаимодействии в дигомозиготе *B/B//gf/gf* наблюдается промежуточный эффект – наличие хлорофилла и уменьшения количества β-каротина с формированием нового фенотипа – грязно-оранжевой окраски плода. При этом уровень хлорофилла, детерминируемый геном *gf*, сильно нивелируется генетическим фоном. По содержанию β-каротина в дигомозиготе наблюдается незначительная репрессия со стороны гена *gf*, что приводит к его снижению в среднем на 25%. В процессе исследований получены высокопродуктивные селекционные линии томата с генотипом *gf/gf* и *B/B//gf/gf*.

Список литературы

1. Kerr E.A. Linkage relations of *gf* // Rpt. Tomato Genet. Coop. – 1958. – Vol. 8. – P. 21.
2. Palmieri S., Martiniello P., Soressi G.P. Chlorophyll and carotene content in *high pigment and green flesh* fruits // TGC Report. – 1978. – Vol. 28. – P. 12.
3. Жученко А.А. Генетика томатов. – Кишинёв: Штиинца, 1973. – 664 с.
4. Авдеев Ю.И. Селекция томатов. – Кишинёв: Штиинца, 1982. – 284 с.
5. Кузьменский А.В. Особенности неаллельного взаимодействия генов *gf* и *B* у томата // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 38, № 5. – С. 13-19.
6. Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта. – М.: ВАСХНИЛ, 1986. – 112 с.
7. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1979. – 416 с.

Представлена В.А. Кунахом
Поступила 20.01.2007

ВЗАЄМОДІЯ ГЕНІВ *GF* (*GREEN FLESH*)
Й *B* (*BETA-CAROTENE*),
ЯКІ МОДИФІКУЮТЬ БІОГЕНЕЗ
β-КАРОТИНА

О.В. Кузьменський

Інститут овочівництва і баштанництва
УААН
Україна, 62478, п/в Селекційне Харківсь-
кого р-ну Харківської обл.

Показано, що при міжгенній взаємодії в
дигомозиготі *B/B//gf/gf* спостерігали про-

міжний ефект – наявність хлорофілу й зменшення кількості β-каротину з формуванням нового фенотипу – брудно-оранжевого забарвлення плоду. При цьому рівень хлорофілу, що детермінується геном *gf*, нівелюється генетичним фоном. За вмістом β-каротину в дигомозиготі спостерігали модифікуючу дію з боку гена *gf*, що призводить до його зниження в середньому на 25%.

Ключові слова: томат, міжгенна взаємодія, фенотип, дигомозигота, β-каротин, хлорофіл, плід.

INTERACTION OF *GF* (*GREEN FLESH*)
AND *B* (*BETA-CAROTENE*) GENES,
MODIFYING β-CAROTENE BIOGENESIS

A.V. Kuzemskiy

Institute of Vegetables and Melon Ukrainian
Academy of Agrarian Sciences 62478,
Seleksijne, Kharkiv rg., Ukraine

It is shown that with intergenic interaction in *B/B//gf/gf* digomozygote there is observed an intermediate effect – availability of chlorophyll and decrease of β-carotene quantity with forming of a new phenotype – dirty-orange color of a fruit. With this the level of chlorophyll, which is determined by *gf* gene, is greatly leveled by genetic background. By the content of β-carotene in the dihomozygote there is observed modifying action on the side of *gf* gene, which results in its decrease average by 25%.

Key words: tomato, intergenic interaction, phenotype, digomozygote, β-carotene, chlorophyll, fruit.