

УДК 635.64: 577.21: 631.547.66: 547.979.8

В. Ф. АДЖИЕВА¹, Н. А. НЕКРАШЕВИЧ¹, О. Г. БАБАК¹, Л. А. МИШИН²,
член-корреспондент А. В. КИЛЬЧЕВСКИЙ¹

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕЖКИХ ГИБРИДОВ ТОМАТА С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ КАРОТИНОИДОВ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь
Adjieva_vika@mail.ru; natali.n25@mail.ru; babak_olga@mail.ru; A.Kilchevsky@igc.bas-net.by

²Институт овощеводства НАН Беларуси, Самохваловичи, Беларусь
leo123@tut.by

Протестирована коллекция томата с применением функциональных ПЦР маркеров к генам, детерминирующим содержание каротиноидов и период сохранности плодов. Выделенные в результате ДНК-типирования источники селекционно-ценных генов использовались в скрещивании высококароотиновых линий и лежких тестеров по схеме топкроссов. Изучена комбинационная способность линий и тестеров по признаку «массовая концентрация β-каротина», выделены образцы с высоким содержанием β-каротина и ликопина.

Ключевые слова: томат, мутантные гены, период сохранности плодов, каротиноиды, комбинационная способность.

V. F. AJYIEVA¹, N. A. NEKRASHEVICH¹, O. G. BABAK¹, L. A. MISHIN², A. V. KILCHEVSKY¹

USE OF MOLECULAR MARKERS FOR THE DEVELOPMENT OF LONG-STORAGE TOMATO HYBRIDS WITH A HIGH CAROTENOID CONTENT

¹Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus
Adjieva_vika@mail.ru; natali.n25@mail.ru; babak_olga@mail.ru; A.Kilchevsky@igc.bas-net.by

²Institute of vegetable growing of the National Academy of Sciences of Belarus, Samokhvalovichy, Belarus
leo123@tut.by

A collection of tomato genotypes was tested by functional PCR markers for the genes determining a carotenoid content and a period of fruit preservation. Identified as a result of DNA-typing sources of breeding the valuable genes were used for high carotene content line crossing and long-storage testers according to the top-cross scheme. The combining ability of lines and testers on the basis of “mass concentration of β-carotene” features was studied and the specimens with a high concentration of β-carotene and lycopene were selected.

Keywords: tomato, mutant genes, fruit storage life, carotenoids, combinational ability.

Введение. Углубленное изучение природных антиоксидантов позволило установить их важную роль в профилактике ряда заболеваний [1; 2]. Томат – ценный источник β-каротина, ликопина, аскорбиновой кислоты и флавоноидов. В последние годы во многих странах мира наряду с приоритетными направлениями селекции томата (продуктивность, устойчивость к патогенам, высокая адаптивность и др.) активно развивается селекция на повышенное содержание каротиноидов. Работы по получению форм томата с высоким содержанием пигментов ведутся в России [3], Болгарии [4; 5], Приднестровье [6], Украине [7] и других странах. Однако в Беларуси имеются единичные примеры подобных работ [8]. Селекция на повышенное содержание каротиноидов связана с трудностями отбора по фенотипу. Большинство генов, определяющих биосинтез каро-

тиноидов, фенотипически проявляются на поздних стадиях развития растений, что существенно замедляет и удорожает селекционный процесс. Применение маркер-ассоциированной селекции позволит сократить период создания высококаротиновых форм томата за счет оценки большого количества материала на ранних стадиях развития и повысить эффективность отбора.

Гены *B*, *og^c*, *t*, *gf*, *hp-1*, *hp-2* и другие модифицируют физиолого-биохимические процессы при созревании плодов, позволяя создавать сорта с измененным и повышенным содержанием каротиноидов. В последние годы большое внимание уделяется получению гибридов с длительным периодом сохранности плодов. Гены *rin*, *nor* и *nor^d* получили наибольшее применение в селекционной практике. Однако рядом исследователей отмечаются недостатки лежких плодов: недостаточная пигментация, низкое содержание каротиноидов [9; 10]. В связи с этим для повышения эффективности использования генов, детерминирующих сохранность плодов томата, представляет интерес их комбинирование с генами, контролирующими содержание каротиноидов. Для этого в 2009 г. нами был создан ряд гибридов, сочетающих гены, изменяющие содержание каротиноидов (*B*, *og^c*, *t*, *gf-3*) и период сохранности плодов томата (*nor*, *nor^d*, *rin*).

Материалы и методы исследования. Объектом исследования являлись 10 родительских форм и 24 гибрида F_1 , полученных в результате скрещивания высококаротиновых и лежких образцов томата. Массовую концентрацию β -каротина определяли спектрофотометрическим методом с дополнительной очисткой при помощи колончатой хроматографии [11]. Хроматографический анализ содержания ликопина проводили методом ВЭЖХ на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence (Япония) [12]. В качестве стандарта применялись препараты β -каротин и ликопин (Bio Chemika). Идентификацию каротиноидов осуществляли по времени их удерживания и УФ-спектрам. Содержание пигментов выражали в мг/100 г сырой массы. Для оценки комбинационной способности родительских форм по признаку «массовая концентрация β -каротина» использовали модель R. E. Comstock, H. F. Robinson [13].

Результаты и их обсуждение. Результаты определения массовой концентрации β -каротина и ликопина в плодах изучаемых форм представлены в табл. 1. В 2010 г. по содержанию β -каротина четыре гибридные комбинации и две материнские линии статистически значимо превосходили стандартный гибрид F_1 Старт. Комбинации Луч \times Мо 948, Луч \times Лонг кипер, Флайме \times Мо 950, Флайме \times Лонг кипер были получены на основе линий Луч и Флайме, которые несут в своем генотипе ген *B*, детерминирующий высокое содержание β -каротина. Для этих гибридных комбинаций содержание β -каротина колебалось от 3,8 до 3,95 мг/100 г, что превышало содержание данного пигмента в стандарте на 32–38 %.

В 2011 г. из-за сложных погодных условий изучаемые генотипы накопили в среднем на 26,7 % меньше β -каротина, чем в 2010 г., причем содержание пигмента у стандарта F_1 Старт осталось практически на одном уровне. В связи с этим лишь одна гибридная комбинация Луч \times Мо 950 и две материнские линии Черный принц (*gf-3*) и Флайме (*B*) статистически значимо превосходили стандарт по изучаемому признаку.

По результатам двухлетних наблюдений выделились комбинации Бония \times Лонг кипер, Черный принц \times Мо 950, Черный принц \times Лонг кипер, а также комбинации, полученные на основе линий Луч и Флайме, за исключением гибрида Луч \times Мо 577. Массовая концентрация β -каротина в плодах данных форм превышала среднее значение признака стандарта F_1 Старт (табл. 1).

Результаты анализа содержания ликопина в изучаемых формах томата представлены в табл. 1. Ликопин является преобладающим каротиноидом в красноплодных сортах томата. Содержание этого пигмента в плодах варьирует от 0,5 мг/100 г для желтоплодных до 3–7 мг/100 г для красноплодных сортов. По содержанию ликопина выделились линии Бония (*og^c*) и Черный принц (*gf-3*), несущие гены, повышающие содержание этого пигмента, а также гибриды, полученные на их основе. У линий концентрация ликопина оказалась максимальной и равнялась 8,2 и 11,8 мг/100 г соответственно, что превосходило стандартный гибрид F_1 Старт на 58–127 %. У гибридных комбинаций содержание данного пигмента достигало 6,2–7,6 мг/100 г, что превышало стандарт по данному признаку на 19–46 %.

В табл. 2 представлены эффекты ОКС g_i и варианты СКС $\sigma_{S_i}^2$ по массовой концентрации β -каротина, характеризующие родительские линии как компоненты скрещивания.

Т а б л и ц а 1. Массовая концентрация β -каротина и ликопина в плодах родительских форм и гибридов F_1 томата, мг/100 г сырой массы

Наименование образца	Массовая концентрация β -каротина			Содержание ликопина
	2010 год	2011 год	Среднее	
Yellow oxyheart \times Мо 577	2,67	2,08	2,38	3,3
Yellow oxyheart \times Мо 948	2,10	2,16	2,13	3,7
Yellow oxyheart \times Мо 950	2,37	1,89	2,13	5,3
Yellow oxyheart \times Лонг кипер	3,17	1,77	2,47	5,6
Бония \times Мо 577	2,87	1,50	2,19	7,1
Бония \times Мо 948	2,20	1,73	1,97	7,6
Бония \times Мо 950	3,00	2,23	2,62	6,5
Бония \times Лонг кипер	3,70	2,33	3,02	6,5
Черный принц \times Мо 577	3,10	1,93	2,52	4,7
Черный принц \times Мо 948	2,63	2,13	2,38	6,2
Черный принц \times Мо 950	3,50	1,97	2,74	6,9
Черный принц \times Лонг кипер	3,70	2,27	2,99	7,2
Золотой \times Мо 577	2,40	1,70	2,05	4,1
Золотой \times Мо 948	3,90*	1,40	2,65	4,8
Золотой \times Мо 950	2,57	1,57	2,07	3,9
Золотой \times Лонг кипер	2,73	1,90	2,32	5,6
Луч \times Мо 577	2,43	1,67	2,05	1,8
Луч \times Мо 948	3,80	2,53	3,17	3,3
Луч \times Мо 950	3,68	3,63*	3,66	2,9
Луч \times Лонг кипер	3,95*	2,07	3,01	3,5
Флайме \times Мо 577	3,20	2,57	2,89	2,3
Флайме \times Мо 948	3,20	2,80	3,00	3,0
Флайме \times Мо 950	3,83*	2,20	3,02	3,7
Флайме \times Лонг кипер	3,90*	2,83	3,37	3,5
Yellow oxyheart (<i>t</i>)	2,53	2,07	2,30	0,2
Бония (<i>og^c</i>)	2,63	2,53	2,58	8,2
Черный принц (<i>gf-3</i>)	5,30**	3,53*	4,42	11,8
Золотой	0,27	0,21	0,24	0,1
Луч (<i>B</i>)	3,37	2,90	3,14	2,0
Флайме (<i>B</i>)	4,80**	3,40*	4,10	2,1
Мо 577 (<i>rin</i>)	0,80	1,30	1,05	0,0
Мо 948 (<i>nor</i>)	1,43	1,41	1,42	1,4
Мо 950 (<i>nor^d</i>)	1,77	2,34	2,06	3,9
Лонг кипер	3,03	2,60	2,82	6,0
Старт F_1 (стандарт)	2,87	2,60	2,74	5,2
НСР _{0,05}	0,96	0,65	–	–

Примечания: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$.

Т а б л и ц а 2. Эффекты ОКС (g), вариансы СКС ($\sigma_{S_i}^2$) и средние значения массовой концентрации β -каротина (x_i) в плодах линий и тестеров томата

Родительская форма	Показатель массовой концентрации каротина					
	x_i		g_i		$\sigma_{S_i}^2$	
	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.	2010 г.	2011 г.
<i>Линии</i>						
Yellow oxyheart (<i>t</i>)	2,53	2,1	–0,45	–0,15	0,6	0,2
Бония (<i>og^c</i>)	2,63	2,5	–0,18	–0,17	0,4	0,2
Черный принц (<i>gf-3</i>)	5,30	3,5	0,11	–0,04	0,2	0,1
Золотой	0,27	0,2	–0,23	–0,48	1,7	0,2
Луч (<i>B</i>)	3,37	2,9	0,34	0,36	0,7	1,6
Флайме (<i>B</i>)	4,80	3,4	0,41	0,48	0,0	0,4
<i>Тестеры</i>						
Мо 577 (<i>rin</i>)	0,80	1,3	–0,28	–0,21	1,0	0,6
Мо 948 (<i>nor</i>)	1,43	1,4	–0,15	0,01	2,2	0,2
Мо 950 (<i>nor^d</i>)	1,77	2,3	0,03	0,13	0,3	1,5
Лонг кипер	3,03	2,6	0,40	0,08	0,4	0,5

Образцы Флайме и Луч, для которых отмечено высокое значение признака на протяжении двух лет исследования, имели и самые высокие эффекты ОКС, что свидетельствует о целесообразности их использования в селекции с целью получения гибридов с высоким содержанием β -каротина.

Среди тестеров сорт Лонг кипер имел максимальную ОКС в 2010 г. и относительно высокую ОКС в 2011 г. Форма Мо 950 также обладала высокими значениями признака и эффектами ОКС на протяжении двух лет исследования. Выявлено наименьшее ингибирующее действие Мо 950 с геном *nor^d* на содержание β -каротина в гибридном потомстве по сравнению с лежкими тестерами Мо 577 (*rin*) и Мо 948 (*nor*), что позволяет характеризовать эту форму как перспективную для селекции лежких томатов с высоким качеством плодов.

Закключение. Выделены гибриды томата, превосходящие стандарт по массовой концентрации β -каротина: Бония \times Лонг кипер, Черный принц \times Мо 950, Черный принц \times Лонг кипер, а также большинство комбинаций, полученных на основе линий Луч и Флайме. Превышение данных гибридов над средним значением признака у стандарта равнялось 22,6–33,6 %. Достоверно превосходили стандарт по этому признаку линии Луч и Флайме с геном *B*, контролирующим высокое содержание β -каротина.

По содержанию ликопина отмечены линии Черный принц (*gf-3*) и Бония (*og^c*), а также гибриды, полученные на их основе, которые на 19–46 % превысили стандарт по данному признаку. Форма Черный принц с геном *gf-3* превосходила стандарт по комплексу каротиноидов – β -каротин и ликопин.

Оценка комбинационной способности родительских форм по массовой концентрации β -каротина позволила выделить линии Флайме и Луч, которые обладали высокими значениями признака и эффектами ОКС, что свидетельствует о целесообразности их использования в селекции на получение гибридов с высоким содержанием β -каротина. Среди тестеров отмечены образцы с высокой ОКС – Лонг кипер и Мо 950. Мутантная лежкая форма Мо 950 (*nor^d*) обладала высоким значением признака и ОКС, что характеризует ее как перспективную для селекции лежких томатов с высоким качеством плодов.

Проведенное исследование позволило установить, что в результате скрещивания форм с генами, контролирующими содержание каротиноидов (*B*, *og^c*, *t*, *gf-3*) и период сохранности плодов томата (*nor*, *nor^d*, *rin*), удалось частично уменьшить отрицательные плеiotропные эффекты последних: недостаточную пигментацию лежких плодов, низкое содержание каротиноидов. Выделены гибридные комбинации, сочетающие высокое содержание каротиноидов с длительным периодом сохранности плодов [14], что подтверждает целесообразность скрещивания высококаротиновых и лежких образцов томата в селекции на качество плодов.

Список использованной литературы

1. *Minhthy, L. N.* Lycopene: Chemical and Biological Properties / L. N. Minhthy, S. J. Schwartz // *Foodtechnology*. – 1999. – Vol. 53. – P. 38–45.
2. *Southon, S.* Increased fruit and vegetable consumption within the EU: potential health benefits / S. Southon // *Food Research International*. – 2000. – Vol. 33. – P. 211–217.
3. Особенности наследования скороспелости и содержания ликопина у гибридов F₁ томата / И. Ю. Кондратьева [и др.] // *Вестн. Рос. акад. сельскохозяйственных наук*. – 2011. – № 5. – С. 46–48.
4. *Тодоров, Т. В.* Невен – нов сорт домати с повишено съдържание на β -каротин / Т. В. Тодоров // *Растениеведни науки*. – София, 2001. – № 38. – С. 262–264.
5. Study on the variability of lycopene and β -carotene content in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / N. Tomlekova [et al.] // *ActaHorticulturae*. – 2007. – Vol. 729. – P. 101–104.
6. *Выродова, А. П.* Окраска плодов томата определяет их биологическую ценность / А. П. Выродова, О. Е. Яновчик // *Картофель и овощи*. – 2009. – № 2. – С. 30.
7. *Кузменский, А. В.* Эффекты межгенного взаимодействия гена повышенной пигментации *hp-2dg* с геном *B* (*Beta-carotene*) у томата / А. В. Кузменский // *Цитология и генетика*. – 2008. – № 5. – С. 32–40.
8. *Мишин, Л. А.* Селекция томата для условий Беларуси / Л. А. Мишин // *Эффективное овощеводство в современных условиях: материалы науч.-практ. конф., Минск, июль 2005 г.; редкол.: А. А. Аутко [и др.]*. – Минск: Белпринт, 2005. – 304 с.
9. *Гурин, М. В.* Изучение вегетационного периода у гибридов F₁ томата с генами лежкости / М. В. Гурин // *Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы: материалы междунар. науч.-практ. конф., Москва, 2–4 авг. 2010 г.: в 2 ч.* / ВНИИССОК; редкол.: В. Ф. Пивоваров [и др.]. – Москва, 2010. – Ч. 2. – С. 220–229.

10. Кузёменский, А. В. Эффективность взаимодействия гена лежкости *alc* (*alcobaça*) с генами повышенной пигментации плода / А. В. Кузёменский // Цитология и генетика. – 2007. – № 6. – С. 34–43.
11. Продукты переработки плодов и овощей. Метод определения каротина: ГОСТ 8756.22–88. – Введ. 06.03.1980. – М.: Издательство стандартов, 1992. – 4 с.
12. Булда, О. В. Содержание ликопина и других каротиноидов в плодах томата (*Lycopersicon Esculentum* L.) белорусской и зарубежной селекции / О. В. Булда, Л. А. Мишин, Г. Н. Алексейчук // Весці НАН Беларусі. Сер. агр. навук. – 2009. – № 1. – С. 36–41.
13. Comstock, R. E. The components of genetic variance in populations of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance / R. E. Comstock, H. F. Robinson // Biometrics. – 1948. – Vol. 4, N 3. – P. 254–266.
14. Наследование признака «период сохранности плодов» у топкроссных гибридов F₁ томата (*Solanum lycopersicum* L.) / В. Ф. Аджиева [и др.] // Овощеводство. – 2012. – Т. 19. – С. 7–15.

Поступило в редакцию 27.06.2016