

ГЕНЕТИКА, СЕЛЕКЦІЯ І БІОТЕХНОЛОГІЯ

УДК 635.64:575.2:631.527

ПРОЯВЛЕНИЯ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ
У ВЫСОКОПИГМЕНТНЫХ ГЕНОТИПОВ ТОМАТА
ПРИ МЕЖГЕННОМ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ

© 2007 г. А. В. Кузёменский

*Институт овощеводства и бахчеводства Украинской академии аграрных наук
(п/о Селекционное, Харьковская обл., Украина)*

Показано, что экспрессия мутантной дигомозиготы *B/B//hp-2/hp-2* гомологична эффектам генотипов *B/B//hp-1/hp-1* и *B/B//hp-2^{gs}/hp-2^{gs}* с проявлением более высокого уровня содержания β -каротина в плодах. Выявлено, что за счет модифицирующего влияния полигенного фактора возможно уменьшить плейотропный эффект генетической депрессии, связанный с экспрессией генов *hp* у томата. Представлены биохимические эффекты межгенного взаимодействия у генотипов: *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*, *B/B//rin/rin//hp-2/hp-2*, *rin/rin//hp-2/hp-2*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B*.

Ключевые слова: *Lycopersicon esculentum*, гены повышенной пигментации *hp-1* и *hp-2*, плейотропия, биохимические эффекты

К настоящему времени накоплен значительный объем данных, свидетельствующих о важной роли мутаций в регуляции биохимических показателей плодов томата [11-15, 17, 20]. С использованием мутантных генов окраски плода эффективно решаются проблемы повышения лежкости плодов (гены *alc*, *nor*, *rin*) [18, 23], увеличения содержания ликопина (гены *B^c* и *B^{gs}*) [22] и β -каротина (ген *B*) [21]. Большой интерес представляют исследования биохимических эффектов взаимодействия генов [3, 13, 19].

Имеются многочисленные сведения о положительном влиянии на биохимические показатели плодов томата генов *high pigment-1* (*hp-1*) и *high pigment-2* (*hp-2*) [17]. Выявлено, что эти гены увеличивают количество хлоропластов и хромопластов [16]. Этот механизм способствует повышенной фотореакции и приводит к сверхпродукции хлорофиллов, способствуя увеличению концентрации всех каротиноидов плода [12].

Адрес для корреспонденции: Кузёменский Александр Владимирович, Институт овощеводства и бахчеводства УААН, п. Селекционное, Харьковская обл., 62478, Украина; e-mail: ovoch@intercomplex.kharkov.ua

Однако, использование этих генов в селекционных программах ограничено проявлением нежелательных плейотропных эффектов, таких как медленное прорастание семян и низкая их всхожесть, ломкий стебель [15], пониженная мощность и жизнеспособность [6]. Одним из методов преодоления отрицательного плейотропного и депрессивного действия генов серии *high pigment* является использование эффекта гетерозиса [5]. Есть сведения о возможности частичной компенсации плейотропных эффектов [8] и генетической депрессии [17] за счет модифицирующего влияния полигенного генетического фактора, регулирующего экспрессивность мутантных генов [21, 22].

Целью настоящей работы стало изучение плейотропных эффектов гена *hp-2* при межгенном взаимодействии.

МЕТОДИКА

В качестве исходного материала использовали сорта и селекционные линии томата (*Lycopersicon esculentum*) коллекции лаборатории селекции пасленовых растений ИОБ УААН. Источником гена *hp-2* послужили генетические линии CLN 1314 G и CLN 2070 B, полученные

из Азиатского научно-исследовательского центра овощных культур (Asian vegetable research and development center, AVRDC). В качестве контрольных источников генов окраски плода использовали линии коллекции – Центра генетических ресурсов томата (TGRC, США), ВНИИССОК (Россия) и Исследовательского института овощей, декоративных культур и чая (KONARC, Япония).

При скрещивании на аллелизм использовали маркерные линии Центра генетических ресурсов томата – La 3006 (*hp-2*), La 3704 (*at, gf, hp-1*), La 3899 (*sp, u, B, j-2*), La 4012 (*hp-1^u*), La 4014 (*hp-2ⁱ*), Dark green (*dg*).

Для отбора генных рекомбинантов томата использовали оригинальную методику, основанную на выявленных визуальных эффектах неаллельного взаимодействия генов окраски плода по их фенотипу.

Исследования проводили параллельно в условиях открытого грунта и весенних необогреваемых стеклянных теплиц. Фенотипические наблюдения, морфо-биологическое описание, а также сопутствующие учеты и наблюдения проведены согласно методическим рекомендациям [10] и методике проведения экспертизы сортов на разнокачественность, однородность и стабильность [9].

Определение биохимических эффектов изучаемых комбинаций генов на содержание в плодах томата сухого вещества, титруемых кислот, общих сахаров, аскорбиновой кислоты и β -каротина выполнили в аккредитованной лаборатории аналитических измерений ИОБ УААН.

Математическую обработку проводили, используя стандартные методики [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди коллекционных форм томата нами выявлены два образца CLN 1314 G и CLN 2070 B, которые характеризовались наличием гена *B* (идентифицируемого по характерной оранжевой окраске плода) и гена повышенной пигментации. Последний хорошо идентифицировался по темной окраске листьев и незрелых плодов с проявлением очень темной прозелени у плодоножки, имея наибольшее сходство с экспрессией гена *hp-2^{dg}*.

Путем гибридологического анализа с использованием генетических линий, предоставленных R.T. Chetelat (TGRC, США), у форм CLN 1314 G и CLN 2070 B был идентифицирован ген повышенной пигментации *hp-2* и подтверждено присутствие гена *B*.

Установлено, что по характеру экспрессии биохимических показателей выявленная дигомозигота *B/B//hp-2/hp-2* гомологична эффектам межгенного взаимодействия генов *hp-2^{dg}* и *hp-1* с геном *B* [3]. Уровень β -каротина в плодах линий CLN 1314 G и CLN 2070 B составил 2,12 и 2,09 мг/% (табл. 1), что превышает средние значения двойных гомозигот *B/B//hp-1/hp-1* и *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* (табл. 2). По содержанию аскорбиновой кислоты значения дигомозигот *B/B//hp-2/hp-2* соответствует показателю межгенной комбинации *B/B//hp-1/hp-1*, а по уровню титруемых кислот 0,44 % более близки к значениям гомозигот *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* и приближаются к значению контрольных красноплодных сортов 0,49 %.

Однако наиболее оригинальной особенностью линий CLN 1314 G и CLN 2070 B с генотипом *B/B//hp-2/hp-2* является высокий уровень мощности их развития, не свойственный высокопигментным генотипам *hp-1/hp-1* и *hp-2^{dg}/hp-2^{dg}*, характеризующимся проявлением генетической депрессии. Не исключая генетической специфичности гена *hp-2*, которая, к сожалению, нами изучена недостаточно, и особенно на примере других носителей, мы полагаем, что немаловажную роль в регулировании генетической депрессии играет полигенный фактор, максимально эффективно отработанный в данных генотипах.

Таким образом, достаточно важными положительными особенностями межгенного взаимодействия генов *hp-2* и *B* является более стабильное содержание органических кислот, оптимизирующее вкусовые качества плодов, высокий уровень содержания β -каротина и отсутствие генетической депрессии, препятствующей эффективному использованию генов *hp* и *hp-2^{dg}* в практической селекции. Не исключая определенного положительного влияния гена *B* на снижение генетической депрессии, при его взаимодействии с генами повышенной пигментации выявленные особенности генотипа *B/B//hp-2/hp-2* определяют высокую селекционную ценность гена *hp-2* в направлении улучшения биохимических показателей плодов томата. С этой целью линии CLN 1314 G и CLN 2070 B были вовлечены в селекционную программу исследований по созданию нового исходного материала.

В 2005 г. были проанализированы 10 расщепляющихся гибридных популяций F_2 , полученных при участии линий CLN 1314 G и CLN 2070 B (табл. 3). В этих популяциях отобрано 87 генотипов, которые в последующем были высажены и проанализированы в питомнике гибридных популяций F_3 .

При проведении отборов учитывали оптимальность сочетания в одном генотипе генов окра-

ПРОЯВЛЕНИЕ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ

Таблица 1

Биохимические показатели генетических линий томата с генами повышенной пигментации (среднее за 2004-2006 гг.)

Сорт, линия	Ген	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
CLN 1314 G	<i>hp-2, B</i>	5,12±0,11	3,29±0,06	0,45±0,01	30,18±0,34	2,12±0,11
CLN 2070 B	<i>hp-2, B</i>	5,02±0,12	3,25±0,06	0,43±0,02	32,74±0,27	2,09±0,11
Среднее	<i>hp-2, B</i>	5,07±0,12	3,27±0,06	0,44±0,02	31,46±0,31	2,11±0,11
<i>Контрольные красноплодные сорта</i>						
КДС-5	+/+	4,24±0,07	3,07±0,05	0,45±0,02	18,70±0,18	0,22±0,02
Caruso	+/+	5,00±0,11	3,62±0,04	0,52±0,01	24,52±0,23	0,15±0,03
Среднее	+/+	4,62±0,09	3,12±0,05	0,49±0,02	21,61±0,21	0,18±0,03

Таблица 2

Биохимические эффекты неаллельного взаимодействия генов повышенной пигментации *dg* и *hp* с аллелем *B* (2003-2006 гг.)

Генотип	Вегетационный период, дни	Продуктивность, г/растения	Кислотность, %	Аскорбиновая кислота	β -каротин
				мг/%	
<i>B/B</i>	121±1,0	3578±306	0,47±0,02	18,56±0,27	0,97±0,04
<i>hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	138±1,7	1516±145	0,43±0,02	32,29±0,40	0,59±0,02
<i>hp-1/hp-1</i>	140±1,9	1226±138	0,35±0,02	29,40±0,38	0,30±0,01
<i>B/B//hp-1/hp-1</i>	133±1,6	2020±224	0,33±0,01	30,62±0,39	2,04±0,05
<i>B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}</i>	131±1,4	2618±198	0,37±0,02	33,98±0,43	2,42±0,05
<i>B/B//hp-2/hp-2</i>	135±1,5	3240±380	0,44±0,02	31,46±0,45	2,11±0,04

ски плода с такими полигенными хозяйственно ценными показателями как высокая продуктивность растений, устойчивость к болезням, высокая товарность, масса плода. В 2006 г. из популяций F₃ отобрано 97 рекомбинантных форм, фоновый генотип (комбинация исследованных генов) которых приведен в табл. 3. Для большинства генотипов проанализированы биохимические эффекты и определено направление возможного использования.

Среди 13 исследованных популяций, наиболее эффективными по количеству селекционных отборов оказались лишь 4: № 462 F₂ {F₃ [(Княжич x Liberator) x Мл 638] (*gs, u*) x CLN 2070 B}; № 474 F₂ [CLN 2070 B x № 174 (*rin, u*)], № 705 F₂ [CLN 1314 G x F₃ (Неваляшка x Мл 638) (*gf, gs, u*)] и № 815 F₂ [CLN 1314 G x F₃ (Morioka 20 x Сосулька) (*hp-1, nor, u*)]. По некоторым комбинациям, как, например CLN 1314 G x F₃ (Дружба x Т-3627), в F₂ наблюдался высокий выход трансгрессивных рекомбинантных форм, которые, к сожалению, расщеплялись в F₃, не позволяя отобрать ценные генотипы.

В процессе исследований выявлены биохимические эффекты дигомозиготы *B/B//hp-2/hp-2* и тригомозиготы *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*. Незрелые плоды генотипов с наличием двух высокопигментных генов *hp-2* и *hp-1* отличались сильной пигментацией с проявлением

очень темной, почти черной окраски пятна возле плодоножки (*u*⁺).

Тригомозигота *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1* характеризовалась высоким содержанием β -каротина 4,97 мг/% и аскорбиновой кислоты 41,32 % (табл. 4). Присутствие гена *hp-1* способствовало уменьшению содержания органических кислот. По сравнению с дигомозиготой *B/B//hp-2/hp-2* разница составила 0,12 % абсолютного или 28 % относительного их содержания. По содержанию сухого вещества и сахаров плеiotропного влияния со стороны гена *hp-2* не выявлено, что полностью согласуется с данными по влиянию генов *hp-1* и *hp-2^{dg}* [3]. Аналогичные биохимические эффекты выявлены и у тригомозиготы *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1* гибридной комбинации F₃ [F₃ (Morioka 20 x П.П.) x CLN 2070 B].

Достаточно важным является тот факт, что выделенные линии, и особенно № 339 ¹/₁ F₃ [CLN 2070 B x F₂ (Черные x Т-3627)] (*B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*), сочетают высокие биохимические качества плодов с высоким уровнем продуктивности, устойчивостью против болезней (отсутствующие признаки поражения), что в значительной мере связано с мощным вегетативным ростом, весьма не типичным для носителей гена *hp-1*. Выявленная особенность подтверждает наше изначальное предположение, что не типичность гена *hp-2*, свя-

Выход ценных рекомбинантных генотипов из гибридных комбинаций, созданных на основе линий CLN 1314 G и CLN 2070 B

№	Гибридная комбинация	Количество отборов, шт.		Генотипы отобранные в F ₃
		F ₂	F ₃	
462	F ₃ [(Княжич x Liberator) x Мл 638] (gs, y) x CLN 2070 B	9	18	B/B//gs/gs, B ⁺ /B//gs/gs, B/B//(hp-2/hp-2) ^{**} , B/B//hp-2/hp-2, B/B//y/y, B/B//gs/gs//hp-2/hp-2, B/B//gs/gs//(hp-2/hp-2), B/B//gs/gs//hp-2 ⁺ /hp-2, gs/gs//hp-2/hp-2//y/y, B/B//gs/gs//hp-2/hp-2//y/y, B ⁺ /B//hp-2/hp-2//y/y
466	F ₃ (Dark green x Дружба) (B, hp-2 ^{ds}) x CLN 2070 B	4	0	Не отобрано
473	CLN 2070 B x F ₂ (Черные x T-3627) (gf, hp-1)	8	2	B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1, B/B//hp-2/hp-2
474	CLN 2070 B x № 174 (rin)	8	20	B/B//hp-2/hp-2, hp-2/hp-2/rin/rin, B ⁺ /B//hp-2/hp-2, B ⁺ /B//rin ⁺ /rin, B ⁺ /B//hp-2/hp-2//rin ⁺ /rin, B/B//hp-2/hp-2//rin/rin
475	CLN 1314 G x F ₃ (Мориока 20 x Сосулька) (hp-1, nor)	4	1	hp-1/hp-1//nor ⁺ /nor
479	F ₃ (№ 174 x Сосулька) (rin, nor) x CLN 2070 B	4	2	hp-2/hp-2//u/u
488	CLN 1314 G x F ₃ (Мориока 20 x Сосулька) (hp, nor)	4	3	B/B//nor/nor, hp-1/hp-1//nor/nor, B/B//hp-1/hp-1//nor/nor//u/u
704	F ₃ (Мориока 20 x П.П.) (hp-1) x CLN 2070 B]	2	2	B/B//hp-2/hp-2, B/B//hp-1/hp-1 gf/gf//gs/gs//hp-2/hp-2, B/B//gf/gf//gs/gs//hp-2/hp-2, B ⁺ /B//gf/gf//gs/gs//hp-2/hp-2, B ⁺ /B//gf/gf//hp-2/hp-2, B/B//gf/gf//hp-2/hp-2, B/B//gf/gf, B/B//hp-2/hp-2
705	CLN 1314 G x F ₃ (Неваляшка x Мл 638) (gf, gs)	6	14	B/B//gf/gf//gs/gs//hp-2/hp-2, B ⁺ /B//gf/gf//hp-2/hp-2, B/B//gf/gf//hp-2/hp-2, B/B//gf/gf, B/B//hp-2/hp-2
710	CLN 1314 G x F ₃ (Дружба x T-3627) (B, hp-1)	12	0	Не отобрано
711	CLN 1314 G x T-3790 (B ^c , hp-1)	5	2	B/B, B/B//hp-2/hp-2
814*	CLN 1314 G x T-3790 (B ^c , hp-1)	11	11	B/B, B ^c /B ^c , B/B//hp-1/hp-1, B/B//hp-2/hp-2, nor/nor//(hp-2/hp-2) [*] , nor/nor//hp-2/hp-2, nor/nor//hp-1/hp-1 (hp-2/hp-2), nor/nor//hp-1/hp-1//(hp-2/hp-2), B/B//nor/nor//hp-1/hp-1, B/B//nor ⁺ /nor/hp-1/hp-1, B/B//nor/nor//hp-1/hp-1 (hp-2/hp-2), B/B//nor ⁺ /nor/hp/hp (hp-2/hp-2) B/B//nor/nor//hp-2/hp-2)
815*	CLN 1314 G x F ₃ (Мориока 20 x Сосулька) (hp-1, nor)	10	22	B/B//nor/nor//hp-1/hp-1, B/B//nor ⁺ /nor/hp-1/hp-1, B/B//nor/nor//hp-1/hp-1 (hp-2/hp-2), B/B//nor ⁺ /nor/hp/hp (hp-2/hp-2) B/B//nor/nor//hp-2/hp-2)
Всего		87	97	

Примечания: * – популяция F₂ оценивалась в условиях открытого грунта;

** – наличие генов идентифицировано не окончательно.

занная с отсутствием генетической депрессии, определяется особыми качествами не этого гена, а полигенного фона линий CLN 1314 G и CLN 2070 B. Вероятнее всего эти формы содержат генетические системы, модифицирующие процессы мета-

болизма, нарушение которых детерминирует генетическую депрессивность развития.

При анализе биохимических эффектов дигомозиготных генотипов B/B//hp-2/hp-2, отобран-

ПРОЯВЛЕНИЕ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ

Таблица 4

**Биохимические показатели селекционных генотипов
созданных на основе формы CLN 2070 В (2006 г.)**

№	Ген	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
CLN 1314G (B, hp-2)		4,59±0,09	2,95±0,06	0,51±0,02	26,47±0,33	2,56±0,05
CLN 2070 В (B, hp-2)		4,84±0,07	3,18±0,05	0,46±0,01	30,13±0,47	2,54±0,04
F ₃ [CLN 2070 В x F ₂ (Черные x Т-3627)]						
339 _{1/1}	B, hp-2, hp-1	4,23±0,06	3,56±0,04	0,31±0,01	41,32±0,62	4,97±0,04
340 _{2/3}	B, hp-2	3,75±0,04	2,40±0,03	0,43±0,01	29,77±0,35	2,71±0,02
F ₃ [F ₃ (Morioka 20 x П.П.) x CLN 2070 В]						
387 _{2/1}	B, hp-2, hp-1	3,87±0,05	2,74±0,04	0,33±0,01	39,44±0,56	4,28±0,05
F ₂ [F ₃ (№174 x Сосулька) x CLN 2070 В]						
580 _{1/1}	hp-2	4,30±0,07	3,54±0,04	0,39±0,01	26,97±0,39	0,47±0,01

Таблица 5

**Биохимические эффекты селекционных генотипов
гибридной популяции F₃ [(CLN 2070 В x № 174)] (2006 г.)**

Линия	Ген	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
CLN 1314 G	B, hp-2	4,59±0,09	2,95±0,06	0,51±0,02	26,47±0,33	2,56±0,05
№ 174	rin	4,23±0,06	2,95±0,04	0,38±0,01	21,86±0,22	0,33±0,01
347 _{2/1}	B, hp-2	5,13±0,05	3,62±0,04	0,34±0,01	35,54±0,43	3,21±0,05
351 _{2/1}	B, hp-2	4,23±0,04	3,48±0,03	0,35±0,01	32,88±0,36	5,34±0,06
351 _{1/2}	B, hp-2, u	3,60±0,04	3,13±0,02	0,38±0,01	31,42±0,61	3,44±0,04
349 _{2/3}	B, hp-2, u	4,23±0,05	3,54±0,02	0,43±0,02	38,38±0,36	3,48±0,04
348 _{2/3}	hp-2, rin, u	4,47±0,07	3,51±0,05	0,40±0,01	31,26±0,41	0,29±0,01
348 _{2/1}	hp-2, rin, u	4,72±0,05	3,55±0,04	0,39±0,01	30,17±0,38	0,47±0,01
349 _{2/3}	hp-2, rin, u	4,62±0,06	3,57±0,04	0,37±0,02	31,94±0,51	0,30±0,01
348 _{1/14}	hp-2, rin, B, u	4,63±0,09	3,33±0,06	0,38±0,01	30,92±0,40	0,98±0,02
348 _{1/1}	hp-2, rin, B, u	4,30±0,04	3,50±0,02	0,43±0,02	31,31±0,37	1,03±0,02
348 _{2/1}	hp-2, 1/2 rin, 1/2 B, u	4,15±0,05	2,75±0,03	0,43±0,02	35,44±0,19	1,08±0,02
349 _{2/п}	1/2 rin, B, u	4,93±0,07	3,56±0,05	0,41±0,01	31,84±0,47	1,57±0,03
	B, hp-2	4,30±0,05	3,44±0,03	0,38±0,01	34,56±0,44	3,87±0,05
Середнее	hp-2, rin	4,60±0,06	3,54±0,04	0,39±0,01	31,12±0,43	0,35±0,01
	hp-2, rin, B	4,46±0,07	3,42±0,03	0,41±0,02	31,12±0,39	1,01±0,02

ных из гибридной популяции F₂ (CLN 2070 В x № 174 (rin)), отмечено их значительное варьирование по содержанию анализируемых биохимических компонентов – органических кислот, аскорбиновой кислоты и β -каротину (табл. 5). Некоторые селекционные генотипы по содержанию указанных компонентов существенно отличались от исходной высокопигментной формы CLN 2070 В.

В среднем по содержанию органических кислот (0,38 %) отобранные генотипы имели более низкий показатель, а по содержанию аскорбиновой кислоты (34,56 мг/%) и β -каротину (3,87 мг/%), напротив, существенно превышали исходную высокопигментную форму. Таким образом, у рекомбинантных генотипов hp-2/hp-2 за счет смены полигенного комплекса наблюдается „возобновление“ плейотропных биохимических эффектов, характерных для

носителей генов повышенной пигментации. Это в очередной раз свидетельствует о достаточно существенном влиянии генетического полигенного фактора как фоновой среды, способной существенно модифицировать моногенные эффекты. Такое влияние определяется и наличием отдельных ярко выраженных генов модификаторов, способных переопределять экспрессию мутаций, по типу гена MoB усиливающего экспрессию гена B [21].

Выявленные у форм CLN 1314 G и CLN 2070 В признаки, являющиеся нетипичными для подобных высокопигментных форм, такие как мощный рост и более сбалансированное содержание органических кислот, уменьшенное содержание аскорбиновой кислоты, имеют дискретное проявление, что подтверждает созданный на их основе новый селекционный материал. В связи с этим можно пред-

положить, что все представленные эффекты детерминируются не зависимыми модификационными системами полигенного фактора. Это обстоятельство свидетельствует о возможности сочетания в одном генотипе полного комплекса желаемых признаков – высокая продуктивность, сбалансированное содержание органических кислот, повышенное содержание аскорбиновой кислоты и β -каротина.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено, что дигомозиготный генотип $B/B//hp-2/hp-2$ создает надежную генетическую основу для повышения содержания в плодах томата аскорбиновой кислоты до уровня высокопигментных форм 38,00-40,00 мг/% и β -каротина до уровня 4,00-5,00 мг/%.

Учитывая новые обстоятельства, связанные с проявлением плейотропных эффектов нетипичного высокопигментного гена $hp-2$, ранее представленную тригомозиготу $B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1$ можно интерпретировать и как дигомозиготу $B/B//hp-2/hp-2$. Поэтому для большей корректности более целесообразно использовать обозначение $B/B//hp-2/hp-2/(hp-1/hp-1)$.

Исследование генотипов с двойной гомозиготой $rin/rin//hp-2/hp-2$ позволило установить, что она сочетает в себе экспрессию обоих генов – высокое содержание аскорбиновой кислоты, характерное для гена $hp-2$ и незрелый, безликопиновый фенотип гена rin . По содержанию β -каротина отмечен промежуточный эффект, без типичного для гена $hp-2$ повышения, и характерного для гена rin ингибирования, с проявлением признака на уровне 0,29-0,47 мг/% (см. табл. 5). На примере данной межгенной комбинации четко прослеживается два разных типа формирования нового дигомозиготного фенотипа. Первый основан на эффекте комбинирования признаков, при котором новый фенотип сочетает эффекты двух простых гомозигот. Этот тип взаимодействия характерен для генов разнокачественного действия, которые в процессе метаболизма и биогенеза не пересекаются, т.е. имеют независимое проявление. В нашем случае это гены, которые детерминируют разные биохимические компоненты. Второй тип предусматривает непосредственное взаимодействие сочетаемых в одном генотипе генов с формированием эффекта противостояния (антагонистического действия), когда объединяемые гены имеют противоположно направленное действие ($rin/rin//hp-2/hp-2$, из ранее представленных $B/B//gf/gf$ [4]), или эффекта усиления (аддитивного действия) ($B/B//hp-2/hp-2$, $B/B//hp-1/hp-1$), при котором гены общей направленности формируют новый более выраженный фенотип, так называемый аддитивный фактор.

Однако, как показали наши исследования [7], при неаллельном взаимодействии генов, кроме представленных двух типов формообразования новых фенотипов, существует третий тип, характеризующийся проявлением непредсказуемых эффектов связанных с переопределением экспрессивности или расширением спектра взаимодействия сочетаемых генов. В отличие от предыдущих механизмов, этот тип позволяет разделить межгенные фенотипы на типичные, когда в дигомозиготе гены объединяют свои эффекты ($rin/rin//hp-2/hp-2$) и взаимодействуют лишь в направлениях их индивидуальной нормы реакции, и нетипичные, отличающиеся непредсказуемостью нового фенотипа с проявлением новых нехарактерных признаков, что является следствием генетической флуктуации признаков.

Тригомозигота $rin/rin//hp-2/hp-2//B/B$ характеризовалась повышением активности биогенеза β -каротина относительно дигомозиготы $rin/rin//hp-2/hp-2$ и существенным его снижением по сравнению с дигомозиготой $hp-2/hp-2//B/B$. По содержанию других биохимических компонентов закономерных отличий не выявлено. По отношению к генотипам $rin/rin//hp-2/hp-2$ и $hp-2/hp-2//B/B$, тригомозигота $rin/rin//hp-2/hp-2//B/B$ имеет промежуточный фенотипический эффект по содержанию β -каротина с проявлением признака на уровне 1,01 мг/% против 0,35 и 3,87 мг/% соответственно. При этом дигомозигота $hp-2/hp-2//B/B$ более чем в три раза превышает по содержанию β -каротина тригомозиготу $rin/rin//hp-2/hp-2//B/B$, которая, в свою очередь, почти втрое превышает содержание дигомозиготы $rin/rin//hp-2/hp-2$. Таким образом, у исследованных генотипов по отношению к биогенезу β -каротина со стороны гена rin выявлен ярко выраженный ингибирующий эффект, снижающий его содержание в среднем на 70 %. При этом все три генотипа характеризовались предсказуемостью нового межгенного фенотипа в соответствии с особенностями их индивидуальной экспрессии каждого из генов.

Анализируя биохимические эффекты генотипов $nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)$, выявили, что ген nor в присутствии генов повышенной пигментации $hp-1$ и $hp-2$ повышает содержание органических кислот до уровня 0,60 % и содержания β -каротина до 1,08 мг/%. При этом наличие гена ингибирует синтез аскорбиновой кислоты, содержание которой снижалось до уровня 23,77 мг/% и было весьма низким для высокопигментной гомозиготы (табл. 6).

Одновременное присутствие в гибридной популяции двух идентичных по морфологическому и биохимическому фенотипу генов $hp-1$ и $hp-2$

ПРОЯВЛЕНИЕ ПЛЕЙОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ

Таблица 6

Биохимические эффекты межгенного взаимодействия гена лежкости *nor* с генами повышенной пигментации *hp-1*, *hp-2* и геном *B* у генотипов гибридной комбинации F₃ [CLN 1314 G x F₃ (Morioka 20 x Сосулька)]

Линия, сорт	Ген	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
CLN 1314 G	<i>B, hp-2</i>	4,59±0,09	2,95±0,06	0,51±0,02	26,47±0,33	2,56±0,05
Сосулька	<i>nor</i>	4,15±0,07	2,59±0,05	0,46±0,01	14,08±0,21	0,39±0,01
Morioka 20	<i>hp, B^{og}</i>	4,60±0,08	3,18±0,04	0,36±0,01	28,62±0,28	0,83±0,02
№ 656 _{1/п}	<i>nor, hp-2(hp-1)</i>	4,50±0,05	2,91±0,03	0,57±0,03	20,48±0,17	0,82±0,02
№ 656 _{1/1}	<i>nor, hp-2(hp-1)</i>	3,40±0,05	2,32±0,03	0,68±0,03	19,19±0,22	1,09±0,03
№ 656 _{2/4}	<i>nor, hp-2(hp-1)</i>	4,80±0,06	3,23±0,04	0,61±0,02	23,20±0,18	0,91±0,03
№ 657 _{1/1}	<i>nor, hp-1(hp-2)</i>	3,40±0,07	2,20±0,05	0,59±0,02	23,92±0,34	1,04±0,02
№ 660 _{1/3}	<i>nor, hp-1(hp-2)</i>	4,23±0,11	2,92±0,08	0,55±0,01	25,31±0,26	1,44±0,03
№ 660 _{2/2}	<i>nor, hp-1(hp-2)</i>	4,45±0,14	2,95±0,08	0,57±0,02	30,51±0,35	1,16±0,04
№ 408 _{2/п}	<i>nor, hp-2(hp-1), B</i>	3,40±0,07	2,11±0,05	0,91±0,03	24,06±0,26	2,37±0,05
№ 381 _{1/2}	<i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,82±0,05	2,91±0,03	0,57±0,02	19,98±0,19	2,40±0,04
№ 657 _{1/п}	<i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	6,45±0,09	3,69±0,06	0,70±0,02	26,81±0,31	3,06±0,06
№ 659 _{2/п}	<i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,45±0,07	3,10±0,05	0,62±0,02	17,41±0,20	2,71±0,04
№ 662 _{2/1}	<i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	5,15±0,06	2,95±0,03	0,51±0,02	27,58±0,29	-
№ 662 _{1/2}	$\frac{1}{2}$ <i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,87±0,07	2,72±0,04	0,31±0,01	30,30±0,36	2,99±0,06
№ 662 _{1/1}	$\frac{1}{2}$ <i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,17±0,14	2,61±0,07	0,44±0,01	32,47±0,43	4,64±0,08
№ 407	<i>nor, B</i>	3,60±0,06	3,04±0,02	0,49±0,02	17,61±0,22	1,25±0,04
№ 381 _{1/1}	<i>nor, B</i>	3,70±0,08	2,65±0,05	0,49±0,01	13,53±0,19	0,97±0,02
	<i>nor, B</i>	3,65±0,07	2,85±0,04	0,49±0,02	15,57±0,21	1,11±0,03
Средняя	<i>nor, hp-2(hp-1)</i>	4,13±0,08	2,76±0,05	0,60±0,02	23,77±0,25	1,08±0,03
	<i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,85±0,07	2,95±0,04	0,66±0,02	23,17±0,25	2,64±0,05
	$\frac{1}{2}$ <i>nor, hp-1(hp-2), B</i>	4,52±0,11	2,67±0,06	0,38±0,01	31,39±0,40	3,82±0,07

не позволяет с достаточной точностью идентифицировать генотип при их межгенном взаимодействии. Поэтому для их обозначения мы использовали двойную символику в последовательности большей вероятности. В качестве наиболее информативных визуальных признаков идентификации этих генов мы использовали морфологические признаки растения, такие как интенсивность зеленой окраски и мощность роста. Как было отмечено ранее, носители гена *hp-2* отличаются более мощным развитием и имеют более высокий уровень продуктивности. Однако такая градация является достаточно условной, поскольку она ориентирована не на качественные, а на количественные признаки, детерминируемые полигенным фактором. И, как было показано ранее, более мощное развитие исходных форм с геном *hp-2* (CLN 1314 G и CLN 2070), вероятнее всего, связано именно полигенной регуляцией.

Данная комбинация является одним из примеров, когда по фенотипическому проявлению (как на визуальном, так и биохимическом

уровне) не возможно достаточно точно идентифицировать присутствие однотипных мутаций. В связи с этим совместно с лабораторией биотехнологии начаты исследования по разработке методов генетической идентификации и паспортизации генотипов с использованием ДНК-маркеров и SDS-электрофореза запасных белков [2]. Разработка биотехнологических методов генетического контроля позволит значительно оптимизировать процесс отбора ценных рекомбинантных генотипов, а главное, идентифицировать межгенные комбинации на ранних этапах развития растений.

Тройная гомозигота *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B* имела биохимические эффекты подобные дигомозиготе *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)* с более выраженной активизацией биогенеза β -каротина со стороны гена *B*, что способствовало его повышению до уровня 2,64 мг/% (см. табл. 6). Выявлено, что при наличии в данной комбинации генов лишь одного аллеля гена лежкости *nor*, т.е. при его гетерозиготном состоянии – *nor/nor⁺//hp-*

Биохимические эффекты рекомбинантных гомозигот *nor/nor//hp/hp* и *nor/nor//hp-1/hp-1//B^c/B^c* гибридной комбинации F₄ (Жираф x T-3627)

Линии	Гены	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β -каротин
		%			мг/%	
№ 306	<i>nor, hp-1, u</i>	4,17±0,06	3,08±0,04	0,69±0,02	44,03±0,53	0,89±0,02
№ 309 ¼	<i>nor, hp-1, B^c, u</i>	5,67±0,11	3,90±0,07	0,52±0,02	51,83±0,61	0,42±0,01
Жираф	<i>nor, u</i>	3,47±0,05	2,46±0,02	0,45±0,01	21,87±0,31	0,24±0,01
T-3627	<i>hp-1, B^c</i>	6,00±0,07	3,98±0,05	0,33±0,01	28,90±0,34	0,45±0,01

1/*hp-1(hp-2/hp-2)//B/B*, биохимические эффекты, связанные с повышением содержания органических кислот и уменьшения содержания аскорбиновой кислоты, не наблюдаются. То есть по содержанию этих компонентов генотипы *nor/nor⁺//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B* отвечают уровню высокопигментных гомозигот. Гетерозиготное присутствие гена *nor* определяли органолептически, по высокой плотности плодов. Подобная идентификация весьма специфична и эффективна лишь при наличии достаточного опыта. В данном случае биохимические данные полностью подтвердили гетерозиготное присутствие гена *nor*, о чем свидетельствует выявленная биохимическая контрастность относительно эффектов гомозигот *nor/nor//hp/hp(hp-2/hp-2)//B/B*. Как правило, окончательное подтверждение правильности органолептической идентификации того или иного гетерозиготного генотипа мы получаем в следующем сезоне, после обнаружения расщепления данного генотипа. И только в этом случае интерпретируем полученные результаты оценки.

Таким образом, согласно результатам исследований выявлено, что ген *nor*, замедляя процесс созревания плодов, при взаимодействии с генами повышенной пигментации (*hp-1, hp-2*) способствует накоплению титруемых кислот до уровня 0,60-0,66 %, что значительно превышает их обычное содержание и подавляет биогенез аскорбиновой кислоты. Дигомозигота *nor/nor//hp-1/hp-1 (hp-2/hp-2)* является примером нетипичного формообразования нового фенотипа с проявлением непредсказуемого эффекта активизации образования органических кислот.

Учитывая тот факт, что при отборе межгенных комбинаций в F₂ преимущество отдавалось более продуктивным генотипам, к которым с большей вероятностью могли попасть формы с геном *hp-2*, к тому же имеющие и более высокое содержание титруемых кислот (в сравнении с генотипами-*hp-1*), нельзя исключить, что выявленные эффекты являются достоверными лишь для гено-

типов *nor/nor//hp-2/hp-2* и *nor/nor//hp-2/hp-2//B/B*. Для выяснения этого вопроса нами проведено изучение биохимических эффектов межгенного взаимодействия генов в дигомозиготе *nor/nor//hp-1/hp-1* гибридной комбинации (Жираф x T-3627). В этом эксперименте полностью подтверждено активизирующее влияние дигомозиготы *nor/nor//hp/hp* на содержание титруемых кислот с его повышением до уровня 0,69 % и β -каротина – 0,89 мг/% (табл. 7).

Присутствие гена *B^c* оказывало негативный эффект на содержание органических кислот (0,52 %) и биогенез β -каротина (0,42 мг/%). Снижение содержания β -каротина в тригомозиготе *nor/nor//hp-1/hp-1//B^c/B^c* находится в полном соответствии с ранее представленным механизмом экспрессии гена *B^c* (снижение активности фермента ликопин- β -циклазы, который активизирует циклизацию ликопина с образованием β -каротина, что приводит к уменьшению содержания β -каротина в общем балансе каротиноидов).

Таким образом, выявлено, что высокий уровень β -каротина и аскорбиновой кислоты у линий CLN 1314 G и CLN 2070 B обусловлен присутствием мутантной дигомозиготы *B/B//hp-2/hp-2*. Экспрессия данной межгенной комбинации гомологична эффектам дигомозигот *B/B//hp-1/hp-1* и *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* с проявлением более высокого уровня β -каротина. Установлено, что менее выраженный плейотропный эффект генетической депрессии у линий CLN 1314 G и CLN 2070 B связан с генетической регуляцией полигенного фактора, модифицирующего процессы метаболизма, в частности, системы аттракции и транспорта ассимилятов. На основе выделенных линий получен новый генетический материал, позволивший выявить биохимические эффекты взаимодействия в межгенных комбинациях следующих генотипов: *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*, *B/B//rin/rin//hp-2/hp-2*, *rin/rin//hp-2/hp-2*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат. – 1985. – 350 с.
2. Кондратенко С.І., Баитан Н.О., Кузьоменський О.В. Приоритетні напрямки молекулярно-генетичних досліджень в Інституті овочівництва і баштанництва УААН // Сб. тез. III Всеукр. научно-практ. конф. с междунар. участієм „Биотехнология: образование, наука, практика”. – Харьков, 2006. – С. 25-26.
3. Кузьоменський А.В. Взаимодействие мутантных генов, активизирующих биогенез β -каротина в плодах томата // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2005. – Т. 3. – № 1-2. – С. 86-91.
4. Кузьоменський А.В. Особенности неаллельного взаимодействия генов *gf* и *B* у томата // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 38. – № 5. – С. 13-19.
5. Кузьоменський А.В. Преодоление плейотропных эффектов генов серии *High-Pigment* у растений томата в F_1 // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів – 2004. – Т. 2. – № 1. – С. 66-71.
6. Кузьоменський А.В. Степень депрессивности мутантных генотипов у томата // Вісн. Харків. націон. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2002. – № 9 (1). – С. 52-59.
7. Кузьоменський А.В. Формы фенотипических новообразований при неаллельном взаимодействии мутантных генов // Фактори експериментальної еволюції – К.: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 392-398.
8. Кузьоменський А.В., Ерёмченко В.В. Плейотропные эффекты гена *bl* и его практическая ценность для селекции томата // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 29. – № 2. – С. 21-26.
9. Методика проведення експертизи сортів на відмінність, однорідність та стабільність (ВОС) (овочеві, баштанні культури та картопля) // Охорона прав на сорти рослин. – Київ, 2004. – Т.1., Ч. 2.– 252 с.
10. Методические указание по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта. – М.: ВАСХНИИЛ, 1986. – 112 с.
11. Araiño M.L., Maluf W.R., Gomes L.A.A., Oliveira A.C.B. Intra and interlocus interactions between *alcobaça* (*alc*), *crimson* (*og^c*) and *high pigment* (*hp*) loci in tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. // Euphytica. – 2002. – V. 125. – P. 215-226.
12. Bramley P.M. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development // J. Exp. Bot. – 2002. – V. 53, № 377. – P. 2107-2113.
13. Faria M.V., Maluf W.R., Zevedo S.M. et al. Yield and post-harvest quality of tomato hybrids heterozygous at the loci *alcobaça*, *old gold-crimson* or *high pigment* // Genet. Mol. Res. – 2003. – № 2 (3). – P. 317-327.
14. Giovannoni J. J. Genetic Regulation of Fruit Development and Ripening // Plant Cell. – 2004. – V. 6. – P. S170-S180.
15. Jarret R.L., Sayama H., Tigchelaar E.C. Pleiotropic effects associated with the chlorophyll intensifier mutations *high pigment* and *dark green* in tomato // J. Amer. Soc. of Hort. Sci. – 1984. – V. 109, № 6. – P. 873-878.
16. Liu Y., Roof S., Ye Z. et al. Manipulation of light signal transduction as a means of modifying fruit nutritional quality in tomato // PNAS. – 2004. – V. 101, № 26. – P. 9897-9902.
17. Mochizuki T. Studies on lines with high-pigment genes as high vitamin C and carotenoid sources in tomato breeding // Bull. Veg. Organam. Crops Res. Stn. Ser. A. – 1995. – № 10. – P. 55-139.
18. Mutschler M.A., Wolfe D.W., Cobb E.D., Yourstone K.S. Tomato fruit quality and shelf life in hybrids heterozygous for the *alc* ripening mutant // Hort. Sci. – 1992. – V. 27. – P. 352-355.
19. Piccinino, L.L., Scott, J.W. Enhancement of heterozygous *nor* and *nor^a* tomato hybrid fruit color by addition of *hp* and/or *og* genes // Hort. Sci. – 1985. – V. 20. – P. 657 (Abstract).
20. Rick C.M., Chetelat R.T. TGRC stock lists. // Rpt. Tomato Genet. Coop. – 1993. – V. 43. – P. 53-56.
21. Ronen G., Carmel-Goren L., Zamir D., Hirschberg J. An alternative pathway to β -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of *Beta* and *old-gold* color mutations in tomato // PNAS. – 2000. – V. 97, № 20. – P. 11102-11107.
22. Sacks E.J., Francis D.M. Genetic and environmental variation for tomato flesh color in population of modern breeding lines // J. Amer. Hort. Sci. – 2001. – V. 126. – № 2. – P. 221-226.
23. Souza J.C., Maluf W.R., Souza-Sobrinho F. et al. Características de produção e conservação pós-colheita de frutos de tomateiros híbridos portadores do alelo “alcobaça” // Cienc. Agrotecnol. – 2001. – V. 25. – P. 503-509.

Поступила в редакцию
20.04.2007 г.

КУЗЬМЕНСКИЙ

**EXHIBITINGS OF PLEIOTROPIC EFFECTS
AT HIGHLYPIGMENTAL GENOTYPES OF TOMATO
AT INTERGENIC INTERACTION**

O. V. Kuzyomensky

*Institute of Vegetables and Melon Ukrainian Academy of Agrarian Sciences
(Seleksijne, Kharkiv rg., Ukraine)*

It is shown, that the expression of mutant dihomozygote *B/B//hp-2/hp-2* is homologous to effects of genotypes *B/B//hp-1/hp-1* and *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* with higher level exhibiting of the β -carotin contents in the fruits. It is revealed, that due to modifying influence of the polygenic factor, probably to reduce the pleiotropic effect of gene depression bound to an expression of tomato *hp* genes. Biochemical effects of intergenic interaction at genotypes are presented: *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*, *B/B//rin/rin//hp-2/hp-2*, *rin/rin//hp-2/hp-2*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B*.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, raised pigmentation genes *hp-1* and *hp-2*, pleiotropia, biochemical effects

**ПРОЯВ ПЛЕЙОТРОПНИХ ЕФЕКТІВ
У ВИСОКОПІГМЕНТНИХ ГЕНОТИПІВ ТОМАТА
ЗА МІЖГЕННОЇ ВЗАЄМОДІЇ**

О. В. Кузьоменський

*Інститут овочівництва і багтанництва Української академії аграрних наук
(п/в Селекційне Харківської обл., Україна)*

Показано, що експресія мутантної дигомозиготи *B/B//hp-2/hp-2* гомологічна ефектам генотипів *B/B//hp-1/hp-1* і *B/B//hp-2^{dg}/hp-2^{dg}* с проявом більш високого рівня вмісту β -каротину в плодах. Виявлено, що за рахунок модифікуючого впливу полігенного фактора, можливо зменшити плеїотропний ефект генетичної депресії, пов'язаний з експресією генів *hp* у томата. Представлено біохімічні ефекти міжгенної взаємодії у генотипів: *B/B//hp-2/hp-2//hp-1/hp-1*, *B/B//rin/rin//hp-2/hp-2*, *rin/rin//hp-2/hp-2*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)*, *nor/nor//hp-1/hp-1(hp-2/hp-2)//B/B*.

Ключові слова: *Lycopersicon esculentum*, гени підвищеної пігментації *hp-1* і *hp-2*, плеїотропія, біохімічні ефекти