

УДК 635.64: 577.21: 631.547.66: 547.979.8

В. Ф. АДЖИЕВА<sup>1</sup>, Н. А. НЕКРАШЕВИЧ<sup>1</sup>, О. Г. БАБАК<sup>1</sup>, Л. А. МИШИН<sup>2</sup>,  
член-корреспондент А. В. КИЛЬЧЕВСКИЙ<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>Институт 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*

<sup>2</sup>Институт 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. AJYIEVA<sup>1</sup>, N. A. NEKRASHEVICH<sup>1</sup>, O. G. BABAK<sup>1</sup>, L. A. MISHIN<sup>2</sup>, A. V. KILCHEVSKY<sup>1</sup>

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

<sup>1</sup>Institute 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*

<sup>2</sup>Institute 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<sup>c</sup>*, *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<sup>d</sup>* 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<sup>c</sup>*, *t*, *gf-3*) и период сохранности плодов томата (*nor*, *nor<sup>d</sup>*, *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  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -каротина» использовали модель R. E. Comstock, H. F. Robinson [13].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения массовой концентрации  $\beta$ -каротина и ликопина в плодах изучаемых форм представлены в табл. 1. В 2010 г. по содержанию  $\beta$ -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  $\beta$ -каротина. Для этих гибридных комбинаций содержание  $\beta$ -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  $\beta$ -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  $\beta$ -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<sup>c</sup>*) 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  $\beta$ -каротина, характеризующие родительские линии как компоненты скрещивания.

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

Наименование образца	Массовая концентрация $\beta$ -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<sup>c</sup></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<sup>d</sup></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 <sub>0,05</sub>	0,96	0,65	–	–

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

Т а б л и ц а 2. Эффекты ОКС ( $g$ ), вариансы СКК ( $\sigma_{S_i}^2$ ) и средние значения массовой концентрации  $\beta$ -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<sup>c</sup></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<sup>d</sup></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  $\beta$ -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<sup>d</sup>* на содержание  $\beta$ -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.

**Заключение.** Выделены гибриды томата, превосходящие стандарт по массовой концентрации  $\beta$ -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  $\beta$ -каротина.

По содержанию ликопина отмечены линии Черный принц (*gf-3*) и Бония (*og<sup>c</sup>*), 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 –  $\beta$ -каротин и ликопин.

Оценка комбинационной способности родительских форм по массовой концентрации  $\beta$ -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  $\beta$ -каротина. Среди тестеров отмечены образцы с высокой ОКС – Лонг кипер и Мо 950. Мутантная лежкая форма Мо 950 (*nor<sup>d</sup>*) 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<sup>c</sup>*, *t*, *gf-3*) и период сохранности плодов томата (*nor*, *nor<sup>d</sup>*, *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 F<sub>1</sub> 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  $\beta$ -каротин / Т. В. Тодоров // *Растениеведни науки*. – София, 2001. – № 38. – С. 262–264.
5. Study on the variability of lycopene and  $\beta$ -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 F<sub>1</sub> 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 F<sub>1</sub> томата (*Solanum lycopersicum* L.) / В. Ф. Аджиева [и др.] // Овощеводство. – 2012. – Т. 19. – С. 7–15.

Поступило в редакцию 27.06.2016