

УДК 635.64:575.2:631.527

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТЬ ПРОЯВЛЕНИЯ ГЕНОВ ЛЁЖКОСТИ ТОМАТА

© 2008 г. **А. В. Кузёменский**

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

Для носителей генов лежкости *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *rin* выявлена разнокачественность по степени спелости плодов в пределах генотипа, растения и даже плода в местах прямого попадания света или повреждения. Установлено, что по мере возрастания яркости наблюдается ослабление ингибирующего влияния генов лежкости на созревание плодов, которое наиболее контрастно в конце вегетационного периода.

Ключевые слова: *Lycopersicon esculentum* Mill., мутации, гены лежкости *alc*, *nor*, *rin*, *Nr*, *Nr-2*, *Gr*, биохимические эффекты

Для томата известна редкая группа генов лежкости – *alc*, *nor*, *rin*, *Nr*, *Nr-2*, *Gr*, *Cnr*, которые замедляют процесс созревания плодов. Эти генные мутации детерминируют частичную или полную задержку созревания плодов, что связано с ингибированием, как минимум, двух параллельных биохимических процессов – каротиноидогенеза и превращения пектиновых веществ. Первый обеспечивает изменение окраски плода в сторону снижения ее насыщенности, что у красноплодных генотипов связано с уменьшением содержания ликопина, а второй способствует медленному размягчению плодов, повышая их плотность и возможность длительного хранения. Данные эффекты генов лежкости связаны со снижением активности или полным блокированием синтеза пектолитических ферментов, а также энзимов, участвующих в синтезе ликопина, β -каротина [5, 6]. Так, мутация *nor* индуцирует повреждение в гене *Psu-1* протеиновым продуктом которого является фитоинсинтаза. Этот фермент катализирует синтез фитина - предшественника ликопина [7, 8].

Практическая ценность генов лежкости состоит в возможности более длительного хранения плодов. Ингибирование биогенеза каротиноидов, и, прежде всего ликопина, напротив, уменьшает их практическую ценность, вследствие ухудшения товарных качеств плодов. В связи с этим, целью наших исследований было изучение особенностей проявления генов лежкости в онтогенезе и выявление эффектов, мо-

дифицирующих биохимические процессы созревания плодов при воздействии внешних экологических факторов.

МЕТОДИКА

В качестве исходного материала использовали сорта, а также генетические и селекционные линии томата (*Lycopersicon esculentum* Mill.) коллекции лаборатории селекции пасленовых растений Института овощеводства и бахчеводства УААН. Источниками генов лежкости служили: La 2529 (*alc*), Долгохранящийся (*alc*), Long Keeper (*alc*), Cornell 111 (*alc*), Неваляшка (*alc*), Жираф (*nor*), № 180 (*nor*), Сосулька (*nor*), GCR 946 (*nor*), La 3013 (*nor*), GCR 585 (*rin*), № 174 (*rin*), Orko (*rin*), Мо 652 (*Nr*), La 0297 (*Nr*), La 2455 (*Nr-2*), La 2453 (*Gr*).

Исследования проводили параллельно в условиях открытого грунта и весенних необогреваемых стеклянных теплиц. Фенотипические наблюдения, морфо-биологическое описание, а также сопутствующие наблюдения за изменениями окраски плода проведены согласно методическим рекомендациям ВАСХНИЛ [4] и методике проведения экспертизы сортов на разнокачественность, однородность и стабильность [3]. В каждом варианте опыта анализировалось 10 растений.

Определение биохимических эффектов генов лежкости на содержание в плодах томата сухого вещества, титруемых кислот, суммы сахаров, аскорбиновой кислоты, β -каротина, ликопина и

пектиновых веществ выполнили в аккредитованной лаборатории аналитических измерений ИОБ УААН по общепринятым методикам.

В таблицах приведены средние арифметические и ошибка средней. Оценку существенности разности средних рассчитывали по *t*-критерию [2].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценивая проявление окраски плода у мутантов томата с генами *rin*, *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *alc*, мы выявили, что они не достигают полной зрелости. При этом все мутации, за исключением гена *rin*, детерминируют разную степень насыщенности светло-красной окраски плода. Согласно ГОСТ 1725-85, различают четыре степени спелости плодов томата: молочная спелость – плоды, достигшие нормального размера для данного сорта, со светло-зеленой с белесоватым оттенком окраской поверхности, светло-зеленой мякотью с началом ослизнения вокруг семян, с твердой кожурой; бурая спелость – плоды плотные, с глянцем, с частично или полностью бурыми разливами по поверхности плода и с признаками розовой окраски у его вершины. Мякоть белесовато-бурая со светло-розовыми пятнами. Семенная камера полностью заполнена ослизненной плацентой; розовая спелость – переходная от бурой к полной спелости; красная (полная) спелость – техническая спелость, когда плоды становятся красными (розовыми или желтыми в зависимости от сорта) и пригодны для потребления [1]. На основании данной градации, мы разделили мутации лежкости согласно степени спелости плодов, которой они достигают. Мутация *rin* – молочная спелость, *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor* – бурая спелость и *alc* – розовая спелость.

Особенностью мутаций *Gr*, *Nr*, *Nr-2* является проявление красной окраски в виде пигментных пятен, появляющихся на солнечной стороне плода.

Плоды на верхних кистях, формирующихся в конце вегетации при более низких температурах, быстрее достигают бурой спелости и характеризуются более выраженным покраснением плодов и более сильным их размягчением. При этом плоды первых кистей, сформировавшихся гораздо раньше и располагающиеся на нижних ярусах в затенении, оставались неизменно более светло-красными и плотными.

Подобная разнокачественность по степени спелости плодов наблюдалась и у гибридов F₁ гетерозиготных по генам лежкости. Так, в конце вегетации (конец сентября - начало октября) плоды гибридной комбинации F₁ [F₄ (№ 180 (*nor*) x № 174 (*rin*)) x La 2644 (*sh*)] гетерозиготные по генам лежкости *nor* и *rin*, а также по гену желтоплодности *sh*, в пределах ярусности расположения соцветий характеризовались отчетливо выраженной контрастностью по проявлению окраски. При этом плоды более верхнего яруса (8-я кисть) имели более насыщенную окраску, что свидетельствует об их большей спелости. Биохимический анализ плодов разных ярусов подтвердил их разную степень спелости. Плоды верхнего яруса отличались существенно более высоким содержанием сухого вещества, сахаров и β-каротина. Более высокое содержание β-каротина 0,76 мг/% против 0,59 мг/%, а также ликопина (визуально), свидетельствует о более выраженном каротинодогенезе и подтверждает более выраженную спелость плодов верхнего яруса. Это подтверждают и данные по содержанию пектиновых веществ. Выявлено, что при равном их суммарном содержании в плодах верхнего яруса количество протопектиновой фракции более чем в два раза ниже, чем в плодах нижнего яруса (рис. 1). Таким образом, по мере возрастания ярусности, наблюдается своего рода ослабление ингибирующего влияния генов лежкости на созревание плодов, которое наиболее контрастно проявляется в конце вегетационного периода.

Таблица 1

Биохимические показатели плодов гибридной комбинации F₁ [F₄ (№ 180 x № 174) x La 2644], гетерозиготной по генам *rin*, *nor*, *sh* (2006 г.)

Ярус кисти	Окраска плода	Сухое вещество	Сахара	Кислотность	Аскорбиновая кислота	β-каротин
		%			мг/%	
Верхний	Красно-оранжевая	6,66±0,07	5,00±0,04	0,30±0,01	41,49±0,34	0,76±0,02
Нижний	Бледно красно-оранжевая	5,31±0,05	3,87±0,03	0,29±0,01	38,18±0,26	0,59±0,01

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТЬ

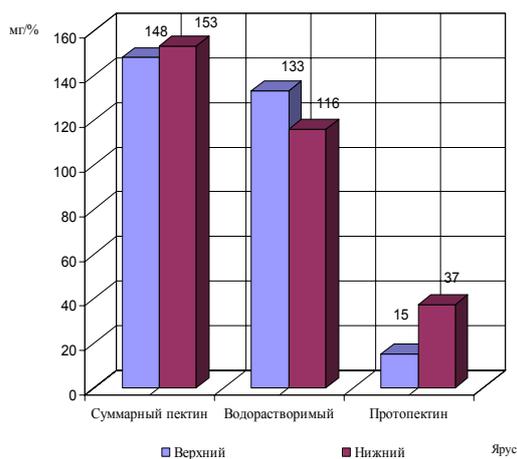


Рис. 1. Содержание пектиновых веществ (мг/%) в плодах разной ярусности гибридной комбинации F₁ [F₄ (№ 180 x № 174) x La 2644].

Выявленный эффект «ярусности» представляет практический интерес для селекционно-семеноводческих исследований, поскольку плоды верхних ярусов, испытывающие менее выраженное ингибирующее воздействие генов лежкости, формируют семена в более развитой плаценте, которая обеспечивает поступление большего количества питательных веществ. Вероятно, такие семена имеют более высокую энергию роста и всхожесть.

Эффект «ярусности» в созревании плодов, наблюдался и у мутаций *rin*, *nor*, при этом плоды линий с геном *rin* характеризовались более насыщенно желтым оттенком окраски плода. Для мутации *rin*, которая характеризуется полным отсутствием ликопина, выявлен весьма интересный эффект стимулирования его биогенеза в местах травмирования и загнивания (вершинная гниль, бактериоз) плодов.

Данный эффект мы использовали в селекционной работе при проведении отборов. Поскольку сильно выраженное ингибирующее действие гена *rin* не позволяет идентифицировать ряд других признаков окраски плода, для их лучшего обнаружения

у выделенных растений на плодах верхних ярусов (6-7-я кисть), в конце вегетации проводили надрез в форме креста. В дальнейшем по оттенку изменяющейся окраски вокруг повреждения судили о наличии тех или иных генов. Так, данный способ оказался весьма эффективным для поиска генетических комбинаций – *rin/B^c*, *rin/B^{og}*, *rin/B^c/hp-1*, *rin/B^{og}/hp-1*, *rin/B^{og}/hp-2*. Присутствие трудно идентифицируемых генов *B^c* и *B^{og}* обнаруживалось по характерной розовой окраске плода в местах повреждения.

Таким образом, внешние факторы оказывают существенное влияние на каротиноидогенез мутаций лежкости, модифицируя как его общие изменения в пределах плода или яруса (кисти), так и локальные – в местах прямого попадания света или повреждения.

Разнокачественность по степени выраженности эффекта лежкости выявлена и среди различных растений одного образца. Причем, как показали наши исследования, такие различия сопровождаются весьма существенными биохимическими изменениями. Так, среди растений линии GCR 946 *nor* (США) мы наблюдали довольно выраженную контрастность по окраске плода, от светло-красной до желто-зеленой. Причем по возрасту и морфологическому фенотипу растения были полностью идентичны. Изучение биохимических показателей плодов указанных фенотипов, позволило выявить их существенные различия (табл. 2).

По всем компонентам, за исключением содержания аскорбиновой кислоты, растения со светло-красными плодами имели более высокие показатели по сравнению с таковыми с желто-зеленой окраской плода. Мы полагаем, что выявленный факт явных фенотипических различий в пределах одного генотипа связан с физиологической разнокачественностью состояния растений, что оказывает влияние на скорость протекания процессов созревания плода. Это подтверждает и тот факт, что подобные различия не имели проявления в потомстве при последующем размножении подобных растений. Вполне очевидно, что, как и в случае с эффектом «ярусности», проанализированные фенотипы со

Таблица 2

Биохимические показатели коллекционной формы GCR 946 *nor* с разным уровнем зрелости плодов

Окраска плода	Генотип	Сухое вещество, %	Сахара, %	Кислотность, %	Аскорбиновая кислота, мг/%	β-каротин, мг/%
Желто-зеленая	<i>nor/nor</i>	3,87±0,05	2,43±0,03	0,41±0,01	26,41±0,18	0,02±0,01
Светло-красная	<i>nor/nor</i>	5,68±0,06	3,69±0,02	0,61±0,02	26,52±0,22*	0,33±0,01

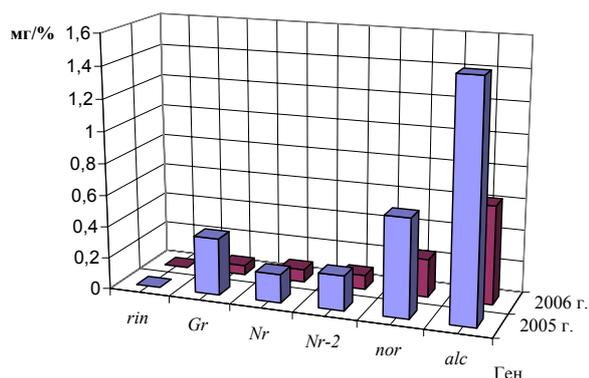


Рис. 2. Содержание ликопина (мг/%) в плодах носителей генов лежкости.

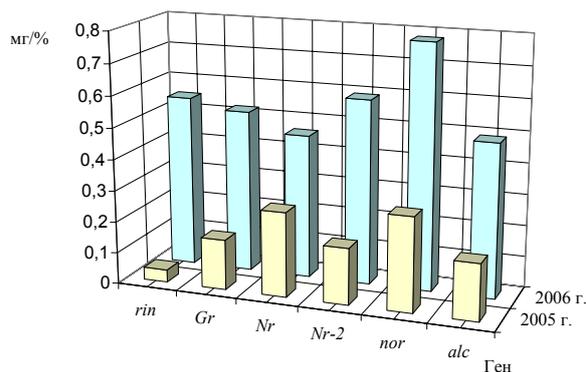


Рис. 3. Содержание β -каротина (мг/%) в плодах носителей генов лежкости.

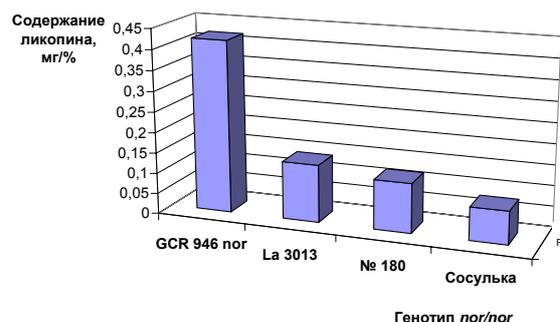
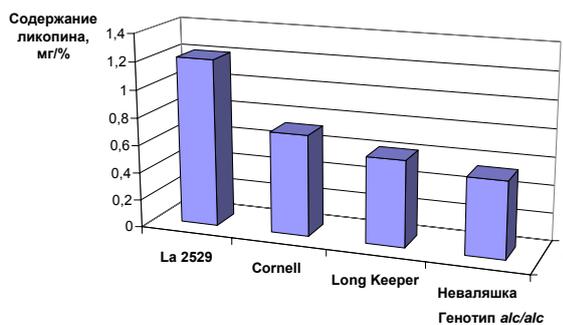


Рис. 4. Содержание ликопина (мг/%) в плодах сортов и линий с генотипом *alc/alc* и *nor/nor*.

светло-красными и желто-зелеными плодами являются разными группами спелости одного генотипа. Данный пример свидетельствует о том, что достаточно существенное влияние на проявление генов окраски и консистенции плода оказывает не только общий генетический фон, внешние факторы, но также и физиологическая разнокачественность растений, которая может закладываться еще при формировании семян.

Еще более существенные изменения по степени проявления эффекта лежкости характерны для мутаций *rin*, *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *alc* в зависимости от погодных условий года. Так, высокая контрастность по степени проявления окраски плода наблюдалась в 2005 и 2006 г. При этом выявлено, что погодные условия вегетационного периода 2005 г. способствовали накоплению в плодах лежких мутаций томата ликопина, а условия 2006 – β -каротина (рис. 2, 3). Представленные

данные демонстрируют многогранность генетических, экологических и физиологических факторов, существенно модифицирующих фенотипический эффект генов лежкости, что необходимо учитывать при селекционно-генетических исследованиях с данной категорией мутаций.

Оценивая практическую ценность генов лежкости с учетом возможного насыщения их окраски плода за счет эффектов межгенного взаимодействия, мы выделили мутации *alc* и *nor*, которые характеризуются сходным фенотипическим проявлением. При этом *nor* имеет более выраженный фенотип, проявляющийся в менее насыщенной красноте плода.

У некоторых носителей гена *nor* проявляется лишь незначительное покраснение плода, причем оно может быть более выражено снаружи, как у линии GCR 946 пог, так и внутри, как у линии La 3013. Сравнение окраски плода у различных источ-

ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РАЗНОКАЧЕСТВЕННОСТЬ

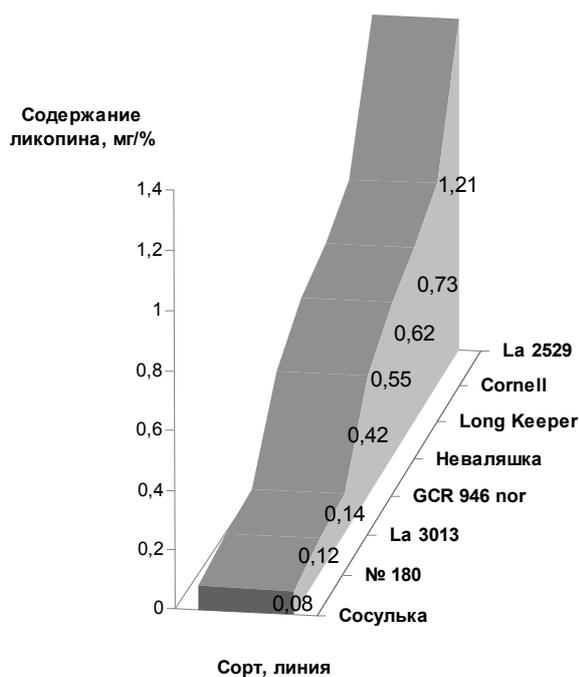


Рис. 5. Содержание ликопина (мг/%) в плодах сортов и линий с генотипом *alc/alc* и *nor/nor*.

ников генов *alc* и *nor* позволило также выявить, что они обладают широкой нормой реакции по данному признаку, что свидетельствует о существенном модифицирующем влиянии полигенного фона (рис. 4) Причем такая разнокачественность в окраске плода проявляется не только в период вегетации растений, но и в процессе последующего дозаривания плодов. Необходимо отметить, что на формирование окраски плода существенное влияние оказывали и экологические факторы, а именно – температурный и световой режим, о чем было отмечено ранее.

Различия по проявлению окраски плода как среди носителей гена *alc*, так и – гена *nor*, настолько значительны, что не удается установить визуальную грань, позволяющую достаточно точно различать носители этих генов между собой. Окраска плода может быть промежуточной, т.е. недостаточно красной для гена *alc*, но слишком красной для гена *nor*. Поэтому, не зная родословной, а также в гибридных популяциях с участием обоих генов, достаточно сложно провести идентификацию по фенотипу.

Изучение содержания ликопина в плодах генотипов *alc/alc* и *nor/nor* позволило подтвердить, что именно данный биохимический показатель определяет фенотипические различия образцов по интенсивности красной окраски плода (см. рис. 4). Среди источников гена *alc* наиболее насыщенно-красную окраску плода имела линия La 2529 с содержанием ликопина 1,21 мг/%. В пределах гено-

типа *nor/nor* по признаку окраски плода выделилась линия GCR 946 *nor* с содержанием ликопина 0,42 мг/%. Таким образом, генотипы *alc/alc* и *nor/nor* можно представить в виде сплошного вариационного ряда с последовательным уменьшением насыщенности красной окраски плода (которая соответствует наиболее высокому содержанию ликопина) от наиболее насыщенного генотипа *alc/alc* до наименее насыщенного генотипа *nor/nor* (рис. 5).

Таким образом, для носителей генов лежкости *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *rin* выявлена разнокачественность по степени спелости плодов в пределах генотипа, растения и даже плода. Установлено, что по мере возрастания ярусности наблюдается ослабление ингибирующего эффекта генов лежкости на созревание плодов, которое наиболее контрастно в конце вегетационного периода. Это свидетельствует о том, что внешние (экологические) факторы оказывают существенное влияние на каротиноидогенез мутаций лежкости, модифицируя как его общие изменения в пределах яруса (кисти), так и локальные в пределах плода – в местах прямого попадания света или повреждения.

Разнокачественность по степени выраженности эффекта лежкости выявлена и среди различных растений одного генотипа, что связано с физиологической разнокачественностью растений, которая закладывается еще в процессе формирования семян, что также связано с влиянием экологических факторов.

Показано, что носители генов *alc* и *nor* имеют сходный фенотипический эффект окраски плода, который можно представить в виде сплошного вариационного ряда с последовательным уменьшением ее насыщенности, которая у красноплодных форм соответствует наиболее высокому содержанию ликопина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисов В.А., Литвинов С.С., Романова А.В. Качество и лежкость овощей. – М., 2003. – 628 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат. – 1985. – 350 с.
3. Методика проведення експертизи сортів на відмінність, однорідність та стабільність (ВОС) (овочеві, баштанні культури та картопля) // Охорона прав на сорти рослин. – К., 2004. – Т. 1, ч. 2. – 252 с.
4. Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта. – М.: ВАСХНИИЛ, 1986. – 112 с.

КУЗЬМЕНСКИЙ

5. DellaPenna D., Lincoln J.E., Fischer R.L., Bennett A.B. Transcriptional analysis of polygalacturonase and other ripening associated genes in Rutgers, rin, nor and Nr tomato fruit // *Plant Physiol.* – 1989. – V. 90. – P. 1372-1377.
6. Fischer R.L., Bennett A.B. Polygalacturonase isoenzymes and pectin depolymerization in transgenic rin tomato fruit // *Plant Physiol.* – 1990. – V. 94. – P. 1882-1886.
7. Fraser P.D., Truesdale M., Bird C.R. Carotenoid biosynthesis during tomato fruit development // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 105. – P. 405-413.
8. Fray R., Grierson D. Identification and genetic analysis of normal and mutant phytoene synthase genes of tomato by sequencing, complementation and co-suppression // *Plant Mol. Biol.* – 1993. – V. 22. – P.589-602.

Поступила в редакцію
06.09.2007 з.

ONTOGENETIC HETEROGENEITY DISPLAY OF TOMATO KEEPING QUALITY GENES

O. V. Kuzyomensky

*Institute of Vegetables and Melons of Ukrainian Academy of Agrarian Sciences
(Selectsijne, Kharkiv reg., Ukraine)*

For the transmitters of keeping quality genes, *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *rin*, heterogeneity by the degree of fruits ripeness within the limits of a genotype, plant and even fruit is exposed – in the places of direct hit of light or damage. It is determined that as far as growth of tier there is observed weakening of inhibition effect of keeping quality genes on ripening of fruits, which is most contrasting at the end of vegetation period.

Key words: *Lycopersicon esculentum*, mutations, keeping quality genes *alc*, *nor*, *rin*, *Nr*, *Nr-2*, *Gr*, biochemical effect

ОНТОГЕНЕТИЧНА РІЗНОЯКІСНІСТЬ ПРОЯВУ ГЕНІВ ЛЕЖКОСТІ ТОМАТА

О. В. Кузьоменський

*Інститут овочівництва і багтанництва Української академії аграрних наук
(Селекційне, Харківська обл., Україна)*

Для носіїв генів лежкості *Gr*, *Nr*, *Nr-2*, *nor*, *rin* виявлено різноякісність за ступенем стиглості плодів у межах генотипу, рослини і навіть плоду – в місцях прямого потрапляння світла або пошкодження. Встановлено, що у міру зростання ярусності спостерігається послаблення інгібуючого ефекту генів лежкості на досягання плодів, яке найбільш контрастне наприкінці вегетаційного періоду.

Ключові слова: *Lycopersicon esculentum*, мутації, гени лежкості *alc*, *nor*, *rin*, *Nr*, *Nr-2*, *Gr*, біохімічні ефекти