

## НАСЛЕДОВАНИЕ ОКРАСКИ ПЕРИКАРПИЯ И СОДЕРЖАНИЯ $\beta$ -КАРОТИНА У ОВОЩНОГО ПЕРЦА

О.О. Тимина<sup>1</sup>, О.Ю.Тимин<sup>2</sup>, С.К. Федоров<sup>3</sup>, Н. Томлекова<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Приднестровский государственный университет,  
Тирасполь, Приднестровье, e-mail: otimina@mail.ru;

<sup>2</sup> Государственное учреждение Республиканский ботанический сад,  
Тирасполь, Приднестровье, e-mail: otimin@mail.ru;

<sup>3</sup> Институт пищевых технологий, Кишинев, Молдова, e-mail: fiodoroffs@mail.ru;

<sup>4</sup> Институт овощеводства «Марица», Пловдив, Болгария, e-mail: nasia.tomlekova@gmail.com

Изучены выраженность и наследование признаков оранжево-красной окраски перикарпия и высокого содержания  $\beta$ -каротина в зависимости от генетического фона у овощного перца. Показано, что оранжево-красная окраска определяется мутантным геном *bc* и доминантным геном *CrtZ-2*. Определена группа сцепления мутантного гена *bc*, контролирующего высокий уровень  $\beta$ -каротина. Обсуждаются возможности его использования в селекции на улучшенный биохимический состав плодов.

**Ключевые слова:** *Capsicum annuum* L., перец овощной, селекция, биохимические признаки,  $\beta$ -каротин, окраска перикарпия, генетический контроль.

### Введение

Селекция на улучшенный биохимический состав сельскохозяйственных растений считается одним из приоритетных и актуальных направлений (Dascalov, 1991; Лудилов и др., 1999; Жученко, 2001). Овощной перец (*Capsicum annuum* L.) – экономически значимая культура для многих европейских и азиатских государств, обладает высокими пищевыми, технологическими и вкусовыми достоинствами и является одним из важнейших источников витаминов РР и С. В плодах перца отмечают и наличие разнообразных каротиноидов, в том числе и  $\beta$ -каротина (Лазурьевский, Гуцу, 1983), являющегося важнейшей составной частью пищевого рациона человека с антиоксидантным эффектом. Исходя из норм физиологических потребностей здорового среднестатистического человека в аскорбиновой кислоте и  $\beta$ -каротине (Нормы ..., 2008) и с учетом того, что антиоксидантный эффект аскорбиновой кислоты проявляется при ее высокой концентрации (Kanner, Budowski, 1978), в 100 г перикарпия перца, предназначенного для свежего потребления, для выраженного биологического эффекта

должно содержаться не менее 100 мг аскорбиновой кислоты и не менее 5 мг  $\beta$ -каротина. С учетом направления селекции для консервной промышленности это содержание должно быть в 1,5–2 раза выше ввиду теплового разрушения витаминов при переработке. Результатом молдавской селекции 1970–1990-х гг. явились сорта Подарок Молдовы, Ласточка, Виктория и другие, в плодах которых в фазу технической спелости содержание аскорбиновой кислоты варьировало в зависимости от условий года в пределах 100–150 мг/100 г сырого вещества (с. в.). При наступлении биологического созревания содержание витамина возрастало, как правило, до 170–200 мг. Но содержание  $\beta$ -каротина было невысоким, в пределах 1,5–2,0 мг/100 г с. в. в фазу биологической спелости. Поэтому дальнейшая работа должна была вестись в основном на улучшение показателя содержания  $\beta$ -каротина с контролем минимального и оптимального уровней содержания витамина С.

Среди методов создания новых сортов и гибридов с улучшенным биохимическим составом одно из ведущих мест занимает мутагенез. Большая и плодотворная работа в этом направлении была проведена на перце профессором

С. Даскаловым с сотрудниками (Институт генетики Болгарской АН, София) (Даскалов, Милкова, 1978; Tomleikova *et al.*, 2006). При рентгеновском облучении семян некоторых болгарских сортов перца были получены радиационные мутанты с ценными признаками: мужской стерильностью, устойчивостью к болезням, высоким содержанием  $\beta$ -каротина в перикарпии. Некоторые из этих мутантов, например, с генами мужской стерильности *ms-3* и *ms-8*, а также неидентифицированный мутант с высоким содержанием  $\beta$ -каротина в плодах были переданы в наше распоряжение для проведения селекционной работы в направлении получения гетерозисных гибридов. Однако полученный мутантный материал помимо ценных свойств обладал рядом нежелательных признаков, таких, как восприимчивость к вертициллезному увяданию, и, кроме того, длина вегетационного периода, окраска и форма плодов не соответствовали региональным требованиям потребителя. Поэтому с 1988 г. были начаты планомерные исследования по созданию нового исходного материала с участием болгарских мутантов сначала в Приднестровском научно-исследовательском институте сельского хозяйства, а затем продолжены в Приднестровском госуниверситете совместно с Республиканским ботаническим садом и Всероссийским институтом овощного хозяйства. С участием мутанта *ms-3* впервые был создан гибрид Юбилейный Семко, имеющий допуск к выращиванию в Российской Федерации и Республике Беларусь и востребованный в производстве уже более 10 лет (Тиминова, 1997). Параллельно аналогичная работа проводилась и с мутантом, накапливающим в плодах высокое содержание  $\beta$ -каротина, так как появилась реальная возможность увеличить содержание этого биологически активного соединения у новых сортов или гибридов и превратить культуру в источник комплекса натуральных витаминов. В то же время данные о содержании  $\beta$ -каротина в плодах с разнообразной окраской перикарпия были немногочисленны и нуждались в уточнениях. Поэтому целью нашей работы явилось выявление генетических механизмов проявления и наследования признаков «содержание  $\beta$ -каротина в плодах», а также «окраска плодов», что позволит обоснованно вести селекцию

на высокое содержание комплекса витаминов и интенсифицирует процесс создания не только сортов, но и гетерозисных гибридов.

### Материалы и методы

Для уточнения взаимосвязи признаков окраски плодов и содержания в них  $\beta$ -каротина использовали материал на основе *S. annuum var. annuum* L. с высоким содержанием провитамина А, разнообразный по окраске перикарпия в технической и биологической спелости молдавской селекции, и болгарский мутантный материал. Главными методами исследования были гибридизация, генетико-статистический и биохимический анализы. Проводили межлинейные и анализирующие скрещивания, беккроссы и последующие индивидуальные отборы. Гибриды получали на фертильной и стерильной основах. Гибриды на фертильной основе получали в пленочных необогреваемых теплицах традиционным способом (Методические указания ..., 1976, 1997) с кастрацией, изоляцией и маркировкой комбинаций. В случае скрещивания на стерильной основе пыльцу отцовской формы наносили на рыльце пестика материнской формы без кастрации. Выращивание растений перца в открытом грунте и в пленочных необогреваемых теплицах проводили рассадным способом согласно принятым агротехническим рекомендациям для культуры (Ершова, 1990). Посев на рассаду проводили в первых числах марта, высадку под пленочные укрытия – в конце апреля, возраст рассады 45–50 дней. Высадка в открытый грунт – 10–15 мая после окончания угрозы заморозков. Растения высаживали ленточным способом, расстояние между лентами 50 + 30 см, между растениями в ряду – 10–25 см в зависимости от габитуса куста: высокорослые через 20–25 см, среднерослые – 15–20 см, букетные – 10–15 см. В течение выращивания растений проводили подкормки согласно показанию контрольных биохимических анализов почвы. Изучали корреляционные зависимости между качественными показателями окраски перикарпия в технической фазе спелости и количественным содержанием  $\beta$ -каротина; наследование признака окраски и содержания витаминов у родительских форм и гибридов  $F_1$  генетико-статистическими методами (Рокицкий,

1974; Лакин, 1990; Тихомирова, 1990; Чесноков, 2009) с определением среднеквадратического отклонения ( $G$ ), коэффициента вариации ( $V$ ), бисериального коэффициента корреляции ( $r_{bs}$ ), степени доминирования ( $hp$ ), частоты рекомбинации по окраске перикарпия ( $r$ ). Вычисление рекомбинации проводили у рекомбинантной инбредной популяции  $F_3$ , полученной из особей  $F_2$  посемейным отбором при самоопылении. Проводили прямой расчет пропорции рекомбинантных форм  $R = n/N$ , где  $n$  – фактическое количество рекомбинантных форм в популяции,  $N$  – общее число учтенных особей, и результат увеличивали в 2 раза согласно частоте кроссоверных гамет. Частоту рекомбинации определяли по формуле  $r = R/2(1-R)$ , используемой для популяций рекомбинантных инбредных линий, получаемых из особей  $F_2$  (Чесноков, 2009). Расчет генетической дистанции между локусами с аллелями желтой окраски  $y$  и высокого содержания  $\beta$ -каротина  $bc$  проводили по формуле Косамби:  $m_k = 25 \ln[(1+2r)/(1-2r)]$ . Прямой анализ  $\beta$ -каротина проводили только у  $F_1$ , о содержании  $\beta$ -каротина в  $F_2$  поколении судили по маркерной окраске перикарпия. Генетический анализ окраски перикарпия проводили в  $F_2$  и  $F_3$ . Обработка результатов проводилась с использованием пакета Statistika 6,0. Обозначения генов – согласно D. Wang, P. Bosland (2006).

Плоды перцев (130 образцов) оценивались по содержанию  $\beta$ -каротина в биологической фазе спелости методами определения по ГОСТ – 8756.22-80 (Продукты пищевые консервированные. Метод определения каротина) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для объективной сопоставимости содержания  $\beta$ -каротина у генотипов с учетом различной обводненности ткани делали перерасчет на сухое вещество. У отдельных линий этими же методами определяли по необходимости содержание  $\beta$ -каротина и в фазу технической спелости. ВЭЖХ выполнялась на жидкостном хроматографе высокого давления Agilent technologies 1200 series с диодноматричным детектором при длине волны  $\lambda = 436 \text{ nm}$ .

**Условия хроматографирования.** Подвижная фаза ацетонитрил : хлороформ – 92 : 8. Скорость потока – 1,5 мл/мин. Хроматографическая колонка Zorbax XDB C18 4,6\*150 мм, 5 мкм. Объем

вводимой пробы 20 мкл. Время одного анализа: 30 мин. Стандартом служил  $\beta$ -каротин, свободный от  $\lambda$ -форм, фирмы «Sigma». Градуировочный график построен 8 точками с концентрациями 4,0; 2,857; 2,222; 2,000; 1,818; 1,538; 0,800; 0,342 мг/100 мл. Подготовка пробы проводилась ацетоном в щелочной среде с  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  с кварцевым песком до полного обесцвечивания. К экстракту в делительную воронку добавляли 15 мл гексана, взбалтывали и оставляли до разделения водно-ацетонового и гексанового слоев. Операцию повторяли до полного удаления следов ацетона. Экстракт гексана пропускали через сульфат натрия для обезвоживания и затем вводили в колонку через дозатор «Реодайн».

Витамин С определяли стандартным методом по ГОСТ 24556. Для исследования использовалась средняя проба из 4–5 плодов (плоды на первых двух ветвлениях). У линейного материала и гибридов  $F_1$  анализ проводился по 4 повторностям, у материала с неустановленным генотипом анализ проводился без повторностей. Окраска перикарпия определялась по фенотипу визуально по ее выраженности.

### Результаты исследований

Скрининг имеющегося генофонда *C. annuum* var. *annuum* по признаку высокого содержания  $\beta$ -каротина выявил источники этого биологически активного соединения у овощного перца, на основе которых был отселектирован новый линейный материал (Timin, Timina, 2007).

У линейного материала на основе молдавской селекции выявили фенотипическую зависимость между окраской плодов и содержанием каротина: линии со светлой окраской перикарпия (кремовой или белой) в технической спелости, как правило, содержали значительно меньшее количество  $\beta$ -каротина и в биологически зрелых плодах (табл. 1). Однако у линий, созданных на основе мутанта Оранжевая Капия с высоким содержанием  $\beta$ -каротина, данная закономерность нарушалась (табл. 2). В целом по созданным линиям подсчитанный бисериальный коэффициент корреляции между содержанием  $\beta$ -каротина и цветом плодов в технической фазе зрелости (темно-зеленые, зеленые и светло-зеленые, кремовые, темно-фиолетовые) оказался невысоким и незначимым ( $r_{bs} = 0,09$   $t_{факт.} = 0,82 < t_{0,95} = 2$ ).

Таблица 1

Содержание  $\beta$ -каротина в плодах овощного перца в фазе биологической спелости у различно окрашенных линий. Пленочные необогреваемые теплицы, весенне-летний оборот, 2004–2005 гг.

Фенотип линии	Содержание $\beta$ -каротина, мг/100 г сухого вещества ГОСТ 8756.22-80			V
	$x \pm m$	min	max	
Линии, созданные без участия мутанта с высоким содержанием $\beta$ -каротина				
Зеленый/красный	23,12 $\pm$ 2,45	11,7	32,78	33,51
Зеленый/желто-оранжевый	23,01 $\pm$ 2,1	20,24	29,26	18,36
Белый/красный или желтый	7,83 $\pm$ 0,63	7,83	8,83	13,91
Темно-зеленый/красный или оранжевый	22,63 $\pm$ 2,48	14,43	29,37	24,48
Фиолетовый/красно-фиолетовый	44,52 $\pm$ 9,19	28,42	60,24	35,74

Таблица 2

Содержание  $\beta$ -каротина и витамина С в зависимости от фазы спелости у линий (F<sub>5</sub>–F<sub>6</sub>), созданных с участием мутанта Оранжевая Капия с высоким содержанием  $\beta$ -каротина в плодах (необогреваемые пленочные укрытия), 2004–2005 гг.

Линия	Окраска плодов в технической/ биологической фазах спелости	$\beta$ -каротин, мг/100 г сухого вещества, ГОСТ 8756.22-80		Витамин С, мг/100 г сырого вещества	
		Фаза спелости			
		1	2	1	2
Оранжевая Капия St	темно-зеленый/оранжево-красный	2,88	53,2	184,4	–
Л-29	зеленый/оранжево-красный	2,51	89,28	194	260
Л-22	кремово-белый/оранжево-красный	0,75	67,78	157	295
Л-40	светло-зеленый/оранжево-красный	1,54	79,03	235	230

Примечание. 1 – техническая, 2 – биологическая фазы спелости, (–) – исследования не проводились.

Это означало, скорее всего, что пигментный состав и содержание каротина – независимые признаки, и поэтому, вероятно, можно значительно улучшать показатель содержания  $\beta$ -каротина в плодах разнообразного цвета.

Не была выявлена и значимая корреляция по содержанию витаминов по фазам спелости, а также между обоими витаминами в зависимости от фазы спелости. Практически не было связи в фазе технической спелости между содержанием сухого вещества, аскорбиновой кислоты и  $\beta$ -каротина. Однако важной и интересной характеристикой селекционной ценности образца оказались его дифференцированные показатели по накоплению  $\beta$ -каротина в технической и биологической фазах спелости. Хотя в технической фазе эти показатели невысокие, но

отличия по содержанию у генотипов имеются и они существенны (табл. 2).

У перспективных селекционных линий уточнили наследование содержания  $\beta$ -каротина в зависимости от окраски перикарпия. Наибольший интерес из созданного материала представляли линии Л-49 и полученный на ее основе питомник фиолетово-красных линий, а также Л-29, Л-40 и другие, полученные на основе мутанта Оранжевая Капия. Результаты анализа, проведенного ранее, показали, что содержание  $\beta$ -каротина при скрещивании контрастных по этому признаку линий Л-49 и Л-48 наследуется как полигенный признак (Тимина и др., 2010).

Генетический анализ линий, полученных с участием мутанта Оранжевая Капия, проведенный на основе скрещиваний с красными, желто-

оранжевыми и оранжево-красными линиями, показал другой тип наследования высокого содержания  $\beta$ -каротина с уточнением взаимосвязи признака и с окраской перикарпия (табл. 3, 4). Результаты свидетельствовали о том, что при скрещивании между собой желтоокрашенных линий у гибридов  $F_1$  не наблюдалось изменений окраски. В скрещиваниях красноокрашенных линий с желто- и оранжево-красными доминировала красная окраска. При скрещивании оранжево-желтых линий с оранжево-красными у плодов  $F_1$  отмечалась красная окраска. При дальнейшем самоопылении красноокрашенных  $F_1$  у  $F_2$  поколения в некоторых комбинациях скрещивания расщепление по окраске укладывалось в двухфакторную схему наследования: 9 красных : 3 оранжево-красных : 4 желто-оранжевых. Но у некоторых комбинаций скрещивания в  $F_2$  наблюдалось значимое превышение  $\chi^2$ , что объясняется возможной пониженной жизнеспособностью двойного рецессива (табл. 5, 6). Наблюдалось варьирование содержания  $\beta$ -каротина у гибридов  $F_1$  в зависимости от генетического фона: в вариантах скрещивания линий оранжево-красных с красными преобладало доминирование низкого значения признака. В вариантах скрещиваний оранжево-красных

с желто-оранжевыми генотипами преобладал промежуточный уровень наследования признака «содержание  $\beta$ -каротина». Результаты возвратного скрещивания  $F_1$  с желтой формой, являющейся двойным рецессивом, выявили расщепление и по окраске, и по содержанию  $\beta$ -каротина. При этом выделялись красные формы с низким и высоким содержанием  $\beta$ -каротина, оранжево-красные – с высоким и желто-оранжевые с низким содержанием  $\beta$ -каротина. Высокие коэффициенты вариации признака у линий и гибридов  $F_1$  показали нестабильность выраженности признака «содержание  $\beta$ -каротина» в плодах. Кроме того, в популяции  $F_3$  семей с оранжево-красным перикарпием обнаруживались красные и желто-оранжевые фенотипические варианты, а в потомстве желто-оранжевых – красные и оранжево-красные (табл. 7). Дальнейшие самоопыления и индивидуальные отборы по окраске перикарпия в ряде случаев приводили к стабилизации признака окраски и содержания  $\beta$ -каротина. В то же время не удалось получить линии желто-оранжевой окраски с таким же высоким содержанием  $\beta$ -каротина, как и у оранжево-красных. Биохимический анализ линейного материала показал совпадение высокого содержания  $\beta$ -каротина с красно-

Таблица 3

Характер наследования  $\beta$ -каротина и окраски перикарпия у гибридов  $F_1$   
(пленочная теплица), 2004–2005 гг.

Комбинация скрещивания, окраска перикарпия	Содержание $\beta$ -каротина, мг/100 г сухого вещества и окраска перикарпия			hp
	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	F <sub>1</sub>	
Оранжевая Капия × Дуэт (оранжево-красная × красная)	38,747	8,624	26,167 (темно-красная)	0,17
Винни-Пух × (Оранжевая Капия × Дуэт) (темно-красная × оранжево-красная)	18,099	29,433	13,177 (темно-красная)	-1,87
Оранжевая Капия × Иоланта (оранжево-красная × темно-красная)	38,747	3,476	16,667 (темно-красная)	-0,25
(Дуэт × Т-119/8) × (Оранжевая Капия × Дуэт) (темно-красная × оранжево-красная)	17,688	35,506	16,978 (темно-красная)	-1,08
Л-48 × Л-49 (темно-красная × темно-красная)	30,0	41,88	40,73 (темно-красная)	0,55
Катюша × Л-29 (желто-оранжевая × оранжево-красная)	7,87	39,04	28,904 (темно-красная)	0,35
Катюша × Л-38 (желто-оранжевая × желто-оранжевая)	7,87	23,53	17,102 (оранжево-желтая)	0,18
Л-147 × Л-29 (бледно-желтая × оранжево-красная)	12,0	39,04	29,21 (темно-красная)	0,27
Ярослав × Л-29 (желто-оранжевая × оранжево-красная)	10,9	39,04	13,24 (темно-красная)	-0,83
Ласточка × Л-29 (темно-красная × оранжево-красная)	12,93	39,04	12,76 (темно-красная)	-1,04

Таблица 4

Окраска перикарпия и уровень содержания  $\beta$ -каротина у родительских форм и гибридов  $F_1$  в анализирующих скрещиваниях. Пленочная теплица, 2004–2005 гг.

Комбинация скрещивания		Окраска перикарпия	$\beta$ -каротин, мг/100 г сухого веса, ВЖХ	Cv, %
$P_1$	46	оранжево-красная	$55,39 \pm 7,64$	27,56
$P_2$	29	- " -	$94,5 \pm 26,53$	68,77
$F_1$	$46 \times 29$	- " -	$68,91 \pm 9,47$	13,75
$P_1$	61	оранжево-красная	$87,57 \pm 8,93$	32,23
$P_2$	29	- " -	$94,5 \pm 26,53$	68,77
$F_1$	$61 \times 29$	- " -	$68,94 \pm 23,52$	73,58
$P_1$	147	желто-оранжевая	$11,49 \pm 1,05$	9,09
$P_2$	144	- " -	$18,54 \pm 6,69$	72,16
$F_1$	$147 \times 144$	- " -	$12,97 \pm 1,56$	31,82
$P_1$	46	оранжево-красная	$55,39 \pm 7,64$	27,56
$P_2$	144	желто-оранжевая	$18,54 \pm 6,69^*$	72,16
$F_1$	$46 \times 144$	темно-красная	$41,88 \pm 6,15$	14,68
$P_1$	61	оранжево-красная	$87,57 \pm 8,93$	32,23
$P_2$	144	желто-оранжевая	$18,54 \pm 6,69^*$	72,16
$F_1$	$61 \times 144$	темно-красная	$24,26 \pm 0,76^*$	6,30
$P_1$	$F_1 (61 \times 147)$	темно-красная	$33,11 \pm 3,398^*$	25,14
$P_2$	144	желто-оранжевая	$18,54 \pm 6,69^*$	72,16
$F_1$	$P_1 \times P_2$	темно-красная	$70,62 \pm 7,59$	21,49
$F_1$	$P_1 \times P_2$	оранжево-красная	$65,34 \pm 7,81$	23,91

Примечание. \* Значимая разница в сравнении с лучшим показателем по каждой комбинации скрещивания.

Таблица 5

Наследование окраски перикарпия в  $F_2$  комбинации скрещивания  
Л-144  $\times$  [(Дуэт  $\times$  Т-119/8)  $\times$  Л-61] с учетом предполагаемой жизнеспособности гамет.  
Пленочная теплица, 2006 г.

Фенотип	Частота в популяции		$\chi^2$
	фактическая	ожидаемая	
1. Расщепление с равноценной жизнеспособностью гамет 9 красных : 3 оранжево-красных : 4 желто-оранжевых			
Красные	74	77	0,117
Оранжево-красные	37	25,7	4,97
Желто-оранжевые	26	34,25	1,99
			$\Sigma = 7,077$
2. Расщепление с предполагаемой дифференцированной жизнеспособностью гамет 9 красных : 3 оранжево-красных : 3 желто-оранжевых			
Красные	74	77	0,117
Оранжево-красные	37	25,7	4,97
Желто-оранжевые	26	25,6875	0,004
			$\Sigma = 5,091$

Примечание.  $\chi^2_{\text{табл.}} = 5,99$  при  $p = 0,05$ .

Таблица 6

Наследование окраски перикарпия в F<sub>2</sub> у некоторых гибридных комбинаций

Комбинация скрещивания	Количество растений в F <sub>2</sub> с плодами			$\chi^2$
	красными	оранжево-желтыми	оранжево-красными	
[(Дуэт × Т-119/8) × Л61] × Л147	82	23	21	4,33
Л144 × [(Дуэт × Т-119/8) × Л61]	74	26	37	7,07
Золотой Юбилей × [(Дуэт × Т-119/8) × Л61]	44	16	16	0,726
Ярослав × [(Дуэт × Т-119/8) × Л61]	43	16	25	0,54
Ярослав × (Капия Оранжевая × Л474)	61	24	4	12,159
Ярослав × (Капия Оранжевая × Дуэт)	42	13	12	1,35

Примечание.  $\chi^2_{\text{теор.}} = 5,99$  при  $df = 2$ ,  $P = 0,95$ .

Таблица 7

Вариация окраски плодов в популяциях F<sub>3</sub> оранжево-красных и желто-оранжевых семей комбинации Л-144 × {(Дуэт × Т-119/8) × Л-61}, 2006 г.

Окраска плодов у отобранных семей в F <sub>2</sub>	Исследовано семей	Количество растений в F <sub>3</sub> с плодами			$\Sigma$	Рекомбинантные формы R, %	Частота рекомбинации r, сМ
		красными	желто-оранжевыми	оранжево-красными			
Оранжево-красные	7	4	35	122	168	46,43	0,43
Желто-оранжевые	4	6	83	2	91	17,58	0,36

оранжевой окраской, которая может служить фенотипическим маркером этого признака. Дальнейшие отборы на высокое содержание  $\beta$ -каротина проводили по маркерной окраске перикарпия. Расчеты пропорций рекомбинантных форм в семьях оранжево-красных и желто-оранжевых показали хорошее совпадение показателей частоты рекомбинации (табл. 7), с учетом которой определено относительное расстояние между локусами оранжево-красной и желто-оранжевой окраски по Косамби, где  $m_k = 64,67$  сМ.

Полученные данные позволяют обсудить следующие вопросы: как вести селекцию на комплексное высокое содержание витаминов, почему окраска у мутантных линий красно-оранжевая; где располагается оранжево-красная мутация и почему в потомстве отборов по рецессивной окраске выделяются новые фенотипические варианты и самое главное – как эти результаты согласовываются с содержанием  $\beta$ -каротина.

### Обсуждение

Отсутствие значимых отрицательных корреляций между содержанием провитамина А и витамина С в плодах позволяет вести селекцию на комплексное высокое содержание витаминов традиционными методами с контролем оптимального содержания обоих витаминов биохимическим методом. Поскольку не найдена значимая корреляция между максимумами накопления провитамина А в технической и биологической фазах, это может означать то, что, скорее всего, содержание  $\beta$ -каротина в фазу технической и биологической спелости контролируется независимыми генными системами. В таком случае необходимо вести параллельную селекцию на высокое содержание провитамина А для каждой фазы. Поэтому, вероятно, проводимый нами только односторонний отбор по признаку «высокое содержание  $\beta$ -каротина» в плодах биологически спелых не привел к автоматическому увеличению содержания этого

витамина и в плодах технически спелых. Так как примерно две трети всего объема перца убирается в фазу технической спелости, в дальнейшем необходимо усилить это направление селекции для кардинального повышения содержания витамина.

Полученные данные подтвердили немногочисленные литературные сведения по наследованию окраски перикарпия: красная окраска доминирует по отношению к желтой и оранжево-красной. При скрещивании желто-оранжевых линий (обозначение гена желтой окраски *y*) гибриды  $F_1$  также наследовали эту же окраску. Поскольку желтая окраска – рецессивный признак, обусловленный делецией гена *CCS*, кодирующего фермент капсантинкапсорубинсинтазу (Lefebvre *et al.*, 1998; Thorup *et al.*, 2000), такой характер наследования свидетельствовал об идентичности генов (тест на аллелизм), контролирующих данный признак у скрещиваемых линий. Выполненный анализ показал также рецессивное наследование оранжево-красной окраски. Однако возвратное скрещивание красноокрашенного гибрида  $F_1$  с желтой формой давало расщепление по окраске на красные и оранжево-красные формы, что указывало, по крайней мере, на дигенный контроль красной окраски перикарпия. Таким образом, наши экспериментальные данные совпадают с виртуальной картой для *Capsicum* (Thorup *et al.*, 2000), созданной на основе сходства групп сцепления томата, баклажана, картофеля. Согласно виртуальной карте, должно быть два гена, которые контролируют превращение  $\beta$ -каротина в  $\beta$ -криптоксантин: ген *CrtZ-1*, находящийся в 6-й хромосоме, и *CrtZ-2*, находящийся в 3-й хромосоме. Согласно нашим результатам, красная окраска перикарпия определяется двумя кодоминантно функционирующими генами, один из которых мутировал. Тогда можно объяснить оранжево-красную окраску перикарпия как продукт функционирования мутантного гена *bc*, выделяющего  $\beta$ -каротин, окрашивающий субстрат в оранжевый цвет, и второго немутировавшего гена, метаболизирующего часть  $\beta$ -каротина до конечного продукта с изменением окраски на красную. Полученные результаты гибридологического и биохимического анализов с желтоокрашенными формами позволяют утверждать, что предположение (Chalukova *et al.*, 1993; Daskalov *et al.*, 1995) о том, что ген *bc*

является мутацией гена, кодирующего фермент  $\beta$ -каротингидроксилазу, является верным.

Поскольку восстанавливалось красное окрашивание перикарпия в скрещиваниях линий оранжево-красных и оранжево-желтых, т. е. при проведении теста на аллелизм мутантные гены *bc* и *y* (табл. 4) характеризуются как неаллельные, затрагивающие разные сайты комплементации, в то же время гены *bc* и *y* должны располагаться в одной и той же хромосоме. Это подтверждают данные, показывающие, что в  $F_3$  популяциях отборов по рецессивным признакам появились новые рецессивные фенотипические варианты. У оранжево-желтого потомства выщепляются оранжево-красные варианты и красные, а у оранжево-красных – оранжево-желтые и красные варианты, что может быть объяснено только наличием кроссинговера у гомологичных хромосом. Появление одновременно у  $F_3$  и красноокрашенных вариантов свидетельствует также об имеющемся цис-транс-эффекте между мутантными генами *bc* и *y*. Поскольку локализация *y* гена точно установлена в 6-й хромосоме (Lefebvre *et al.*, 1998), следовательно, и ген *bc* также располагается в этой же хромосоме и, таким образом, может представлять собой только мутацию гена *CrtZ-1*. Гены *bc* и *y* находятся в 6-й хромосоме, но располагаются достаточно далеко друг от друга и, как правило, сегрегируют независимо. Но в некоторых скрещиваниях  $\chi^2$  значительно отличался от табличного значения. Это явление может быть объяснено дифференциальной жизнеспособностью гамет: у двойного рецессива (*bc/bc yy*) отмечается пониженная жизнеспособность и, возможно, частичная летальность (табл. 6, 7). Косвенным подтверждением возможной пониженной жизнеспособности части гамет служило и наблюдаемое нами массовое опадение завязи при скрещивании ряда желто-оранжевых и красно-оранжевых линий.

Высокие коэффициенты вариации выраженности признака «содержание  $\beta$ -каротина» у линий и гибридов свидетельствовали о влиянии экологических условий и о его нестабильности, возможно, за счет неполного подавления экспрессии рецессивного мутантного аллеля доминантным комплементарным либо за счет эффекта модификаторов. Таким образом, окраска перикарпия обуславливалась доминированием и комплементарным взаимодействием

генов, а содержание  $\beta$ -каротина варьировало согласно типу доминирования.

Проведенный анализ показал, что к известным генам окраски перикарпия и содержания  $\beta$ -каротина (Wang, Bosland, 2006) можно добавить новый идентифицированный мутантный ген *bc*. Он локализован в одной группе сцепления с *у*-геном, относительное расстояние между этими генами, по нашим расчетам, около 64,67 сМ. Определить расстояние между локусами по  $F_2$  в нашем случае не представлялось возможным. Во-первых, определение  $\beta$ -каротина прямым методом в  $F_2$  в силу большого объема анализов не проводилось, и о наличии мутантного гена судили по фенотипическому маркеру – оранжево-красной окраске перикарпия. Кроме того, в нашем случае гомозиготные рецессивы в  $F_2$  происходят за счет кроссоверных гамет, и для расчета можно использовать частоту встречаемости особей только одного фенотипического класса из четырех. И при этом этот класс обладает пониженной жизнеспособностью. Поэтому благодаря совпадению следующих показателей для генов *bc* и *у*: фенотипической выраженности, рецессивности, расположению в одной группе сцепления, но сегрегирующих независимо, кроссинговеру и цис-, транс-эффекту, – наиболее оптимальным явилось определение расстояния между локусами по  $F_3$ .

Несмотря на то что присутствие гена *bc* способно увеличить содержание  $\beta$ -каротина в плодах в 1,5–2 раза, использование данного мутанта в селекции имеет ограничения. Для стабильной выраженности фенотипа, что является одним из основных требований в селекции, необходима гомозиготность. Но даже гомозигота по двум генам *bc/bc CritZ-2/CritZ-2* при скрещивании с желтыми формами будет расщепляться по окраске перикарпия и по содержанию  $\beta$ -каротина из-за дигенности кодирования красной окраски. Кроме того, кроссинговер у гомологичных хромосом с генами *bc* и *у* будет приводить к появлению в потомстве вариантов, имеющих желто-оранжевые и оранжево-красные плоды, а также и красноокрашенные, что обусловит нестабильность выраженности признака окраски. Но использовать полученный мутант в гетерозисной селекции можно, если в скрещивание будут привлечены линии с одинаковой оранжево-красной окраской, созданные без

участия желтоокрашенных форм. Имеется и перспектива дальнейшего увеличения содержания  $\beta$ -каротина за счет получения новой мутации гена *CritZ-2*. Можно полагать, что такая мутация увеличит содержание антиоксиданта в перикарпии еще в 1,5–2 раза.

Выражаем благодарность коллективу исследователей Института генетики Болгарской АН (София), получивших под руководством и при непосредственном участии профессора С. Даскалова интересный материал как для практической селекции, так и для уточнения фундаментальных проблем каротиногенеза у *Capsicum*. **Посвящаем данную работу его светлой памяти с глубокой признательностью.**

Работа выполнялась в рамках международного гранта МАГАТЭ, IAEA RER/5/013 «Evaluation and Utilization of Natural and Mutant Germplasm in Solanaceae Species» и CRP15406 «Evaluation of natural and mutant resources for increased levels of carotenoids in crops with emphasis on pepper».

## Литература

- Ершова В.Л. Возделывание перца сладкого в МССР (рекомендации). Кишинев: Молдагроинформреклама, 1990. 16 с.
- Жученко А.А. Адаптивная система селекции растений (эколого-генетические основы). Монография. В 2 т. М.: Изд-во РУДН, 2001. Т. 1. С. 668–676.
- Лазурьевский Г.В., Гуцу Е.В. Метоболиты стручкового перца. Кишинев: Штиинца, 1983. С. 1–65.
- Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- Лудилов В.А., Гикало Г.С., Гим Р.А. Культура перца на Северном Кавказе. Краснодар: КГАУ, 1999. 214 с.
- Методические указания по селекции и семеноводству овощных культур (томаты, перец). М.: ВАСХНИЛ–ВНИИССОК, 1976. С. 1–78.
- Методические указания по селекции сортов и гибридов перца, баклажана для открытого и защищенного грунта. М.: РАСХН–ВНИИССОК, 1997. С. 1–88.
- Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации // Методические рекомендации / Под ред. В.А. Тутельян. 2008.
- Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. Минск: Высшейш. шк., 1974. 148 с.
- Тимина О.О. Патент на селекционное достижение № 0040. Перец сладкий. Юбилейный Семко.

1997. Выдан: Государственной комиссией Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений по заявке № 9608745 с датой приоритета 17/12/96.
- Тимина О.О., Тимин О.Ю., Федоров С.К. Исследование экспрессии и взаимодействия генов антоциановой окраски и высокого содержания  $\beta$ -каротина у перца овощного в связи с селекцией на качество // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы. II Междунар. науч.-практ. конф. (2–4 августа 2010 г.). Матер. докл., сообщений. ВНИИССОК. М.: Изд-во ВНИИССОК, 2010. Т. 1. С. 507–515.
- Чесноков Ю.В. Картирование локусов количественных признаков у растений. СПб: ВИР, 2009. 100 с.
- Тихомирова М.М. Генетический анализ. Л.: Ленингр. ун-т, 1990. 280 с.
- Chalukova M., Daskalov S., Lukarska E., Baralieva A. Beta-orange mutant in pepper (*Capsicum annuum* L.) // *Capsicum and Eggplant Newsletter*. 1993. N 12. P. 57–58.
- Даскалов С., Милкова Л. Хетерезисна селекция при пипера на стерильна основа // Генетика и селекция. НРБ. 1978. 11. № 2/3. С. 155–161.
- Daskalov S. Experimental mutagenesis and mutation breeding in pepper // *Capsicum Newsletter*. 1991. N 10. P. 13–20.
- Daskalov S., Chalukova M., Baralieva D., Lukarska E. Biochemical investigations of an induced beta-orange mutant in a sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) and developing varieties with increased beta-carotene content // IXth Meeting on Genetics and Breeding on *Capsicum* and *Eggplant*. Budapest (Hungary). August 21–25. 1995. P. 124–127.
- Kanner J., Budowski P. Carotene oxidizing factors in red pepper fruits (*Capsicum annuum* L.): Effect of ascorbic acid and copper in  $\beta$ -carotene – linoleic acid solid model // *J. Food Science*. 1978. V. 43. N 2. P. 524–526.
- Lefebvre V., Badillo A., Daubeze A.-M. *et al.* Genetic linkage between the *y* locus and the capsanthin – capsorubin synthase gene: a discriminating tool of red and yellow fruited peppers // Xth Meeting on Genetics and Breeding of *Capsicum* and *Eggplant*, Avignon-France-September 7–11. 1998. P. 253–256.
- Thorup T.A., Tanyolac B., Livinstone K.D. *et al.* Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the Solanaceae // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2000. V. 97. N 21. P. 11192–11197.
- Timin O.Y., Timina O.O. Creation of hybrids of sweet pepper with improved biochemical content on sterile basis // *Progress in Research on Capsicum and Eggplant* / Ed. K. Niemirowicz-Szczytt. Warsaw University of Life Sciences Press, Warsaw, Poland, 2007. P. 245–254.
- Tomlekova N., Todorova V., Daskalov S. Creating variation in pepper (*Capsicum annuum* L.) through induced mutagenesis // *Plant Sciences*. 2007. N 44. P. 44–47.
- Wang D., Bosland P. The Genes of *Capsicum* // *Hort Science*. 2006. V. 41. N 5. P. 1169–1187.

## INHERITANCE OF PERICARP COLOR PATTERN AND $\beta$ -CAROTENE CONTENT IN VEGETABLE PEPPER

O.O. Timina<sup>1</sup>, O.Y. Timin<sup>2</sup>, S.K. Fiodoroff<sup>3</sup>, N. Tomlekova<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Transnistrian State University, Tiraspol, Transnistria, e-mail: otimina@mail.ru;

<sup>2</sup> Republican Botanical Garden, Tiraspol, Transnistria, e-mail: otimin@mail.ru;

<sup>3</sup> Research Institute of Food Industry, Kishinev, Moldova, e-mail: fiodoroffs@mail.ru;

<sup>4</sup> Maritsa Vegetable Crops Research Institute, Plovdiv, Bulgaria, e-mail: nasia.tomlekova@gmail.com

### Summary

The genetic control of orange-red color pericarp and high  $\beta$ -carotene content in fruits with regard to genetic background has been studied in vegetable pepper. The orange-red color is determined by the mutant *bc* gene and the dominant *CrtZ-2* gene. The linkage group of the *bc* gene, which controls the high content of  $\beta$ -carotene has been determined. The application of the new mutant *bc* gene to the improvement of the biochemical composition of pepper fruits is discussed.

**Key words:** *Capsicum annuum*, vegetable pepper, breeding, biochemical characters,  $\beta$ -carotene, pericarp color, genetic control.