

BARBARA MICHALIK
Akademia Rolnicza w Krakowie

WARREN H. GABELMAN
University of Wisconsin, Madison

DZIEDZICZENIE BARWY I SYNTEZA KAROTENOIDÓW W KORZENIACH MARCHWI

Formy uprawne marchwi cechuje duże zróżnicowanie barwy korzenia spichrzowego. Aktualnie znane i użytkowane są odmiany o barwie białej, żółtej, pomarańczowej i czerwonej [1]. U większości żółto i pomarańczowo zabarwionych odmian marchwi głównymi substancjami barwnymi są karoteny. W formach azjatyckich purpurowy lub żółty kolor jest wynikiem obecności antocjanu lub antochloru [1]. Natomiast czerwono zabarwiona odmiana japońska Kintoki zawiera jako podstawowy barwnik likopen [20, 23].

Prace dotyczące zawartości karotenoidów w marchwi w zależności od odmiany [2, 6], warunków wzrostu [1, 3, 9], wieku rośliny i badanej części korzenia [2, 3, 15] znacznie wyprzedziły badania nad sposobem dziedziczenia koloru, odziedziczalnością barwy oraz liczbą czynników genetycznych, które wywierają wpływ na biosyntezę karotenoidów.

Wszechstronne badania dziedziczenia zabarwienia korzenia marchwi prowadzone są dopiero w okresie ostatnich 15 lat przez Gabelmana i współpracowników. Zagadnienie to jest ogromnie ważne zwłaszcza przy prowadzeniu hodowli odmian heterozyjnych marchwi. Znajomość genotypu materiałów hodowlanych, a zwłaszcza linii wosbnych, pozwala na kierowanie właściwościami genetycznymi potomstwa. W tym wypadku pewnego typu „inżynieria” genetyczna jest konieczna dla uzyskania odmiany heterozyjnej zarówno plennej, jak i wysokiej wartości odżywczej.

Dziedziczenie barwy korzenia marchwi

Dziedziczenie barwy przy krzyżowaniu marchwi o korzeniach białych, żółtych i pomarańczowych

Pierwsze prace z tego zakresu przeprowadzili w USA Borthwick i Em-sweller [4]. Stwierdzili oni dominowanie barwy żółtej w pierwszym poko-

leniu mieszańcowym pochodzącym z krzyżowania żółto zabarwionej odmiany Yellow Belgian i Danvers Half Long o barwie pomarańczowej. Z kolei Poole (1937) zapyłając rośliny odmiany White Belgian o białej barwie pyłkiem odmiany Yellow Belgian otrzymał białe korzenie w pokoleniu F_1 . Szereg badaczy wykazało również dominowanie białej barwy korzeni przy krzyżowaniu marchwi dziko rosnącej z roślinami uprawnymi o korzeniu pomarańczowym [13, 18, 19] lecz jedynie Thompson wysunął hipotezę, że obserwowane zróżnicowanie barwy w dalszych potomstwach mieszańcowych wynika z działania przynajmniej trzech par genów. Z kolei Laferriere i Gabelman [17] badali segregację barwy korzeni w potomstwach pochodzących z krzyżowania marchwi białej (White Belgian), żółtej (Yellow Belgian, linie: PJ 164943, PJ 172894) oraz pomarańczowej (Danvers 126, Imperator, Tendersweet, German Red, Waltham Hicolor i Royal Chantenay). Stosowano wizualną ocenę barwy korzeni i wydzielano klasę białą, żółtą oraz pięć klas barwy pomarańczowej od prawie śladowej obecności po ciemnopomarańczową. Pewną trudność sprawiało rozgraniczenie barwy korzeni między barwą żółtą, a pierwszymi klasami pomarańczowego zabarwienia. Autorzy potwierdzili wcześniejsze doniesienia, że barwa biała korzeni marchwi całkowicie dominuje nad żółtą i wszystkimi klasami pomarańczowej. Wyniki rozszczeń w pokoleniach mieszańcowych, pochodzących z krzyżowania marchwi białej i żółtej, można wyjaśnić w oparciu o działanie jednego genu. Zaproponowano symbol (y) dla allelu recesywnego warunkującego barwę żółtą i symbol (Y) dla allelu dominującego warunkującego białą barwę korzeni. Nie udało się natomiast całkowicie wyjaśnić sposobu dziedziczenia barwy w potomstwach otrzymanych z krzyżowania korzeni o różnym stopniu pomarańczowego zabarwienia z żółtymi. Wysunięto jedynie przypuszczenie, że przynajmniej trzy główne geny z pewnymi modyfikatorami są odpowiedzialne za fenotypowe różnice barwy korzenia. Stwierdzana duża różnorodność w stopniu zabarwienia korzeni może świadczyć o niezależnym dziedziczeniu koloru w części floemowej (kora) i ksylemowej (rdzeń). Otrzymanie w pokoleniu F_1 , pochodzącym z zapylenia rośliny o pomarańczowej barwie korzenia pyłkiem rośliny o żółtej barwie, różnego stopnia purpurowego zabarwienia floemu wskazuje na obecność w roślinach rodzicielskich komplementarnych genów dla barwy purpurowej.

Równolegle prowadzone badania [11] nad dziedziczeniem barwy u mieszańców otrzymanych z krzyżowania linii jasnopomarańczowej (WC 501) z cytrynową (WC 502) i pomarańczowymi (Imp. 1M, TS, 2M, ROC, 3M, G 11026) pozwoliły na stwierdzenie istnienia jednogenej różnicy pomiędzy cytrynową i jasnopomarańczową barwą korzeni (barwa cytrynowa dominuje), jak również jedno genej różnicy między jasnopomarańczową i pomarańczową barwą korzeni (barwa jasnopomarańczowa dominuje).

Dokładniejsze sprecyzowanie różnic genetycznych warunkujących barwę korzeni od żółtej po ciemnopomarańczową zostało zrobione przez Kusta i Gabelmana. Jako formy rodzicielskie użyto linie marchwi pomarańczowej (W 93) i żółtobiałej (G 61006, WB 3). Pokolenie F_1 otrzymano w oparciu o męskosterylną linię W 93A. Rośliny płodne z potomstwa F_1 były zapylane wsobnie oraz krzyżowane wstecznie z linią pomarańczową męskosterylną. W kilku przypadkach, kiedy rośliny F_1 były męskosterylne, zostały wykonane krzyżowania wsteczne z męskopłodną, żółtobiałą linią rodzicielską. Otrzymane potomstwa mieszańcowe były segregowane na 24 klasy w zależności od zabarwienia korzenia. Zasadniczą różnicą, w stosunku do wcześniej prowadzonych prac, było wprowadzenie rozgraniczenia między grupą korzeni marchwi o równomiernym, jednolitym zabarwieniu (non-tinge), a korzeniami z wyraźnie inaczej zabarwioną częścią floemową niż ksylemową (tinge). W grupie pierwszej, równomiernie zabarwionej, wydzielano korzenie: białe, żółtobiałe, jasnożółte, ciemnożółte, jasnopomarańczowe, pomarańczowe i ciemnopomarańczowe. W grupie drugiej (tinge) w zależności od natężenia barwy żółto-pomarańczowej we floemie wydzielono trzy klasy barwy floemu: jasną, średnią i ciemną. W każdej z nich oceniano niezależnie od barwy floemu zabarwienie ksylemu. Mógł on być: biały, żółto-biały, jasnożółty, ciemnożółty, jasnopomarańczowy i pomarańczowy. Autorzy nie znaleźli jednak roślin o jasnym floemie i równocześnie pomarańczowym ksylemie. W wyniku krzyżowań ciemnopomarańczowych i żółto-białych roślin rodzicielskich, otrzymano dwa typy potomstwa F_1 . Pierwszy był reprezentowany przez cztery mieszańce, gdzie wszystkie rośliny pokolenia F_1 miały korzenie o równomiernej barwie (non-tinge). Drugi obejmował trzy mieszańce, których rośliny rozszczepiały się i posiadały korzenie zarówno o jednolitej, jak też zróżnicowanej barwie floemu i ksylemu. Wyniki rozszczepień barwy korzeni uzyskane w pokoleniach F_2 , F_3 oraz z krzyżowań wstecznych i chowu wsobnego wybranych fenotypów stanowiły podstawę do opracowania hipotezy pięcio genowego systemu, który pozwala wyjaśnić segregację barwy korzenia na nie pomarańczowe i pomarańczowe. Zaproponowano symbole (Y Y_1 Y_2) dla barwy nie pomarańczowej oraz (IO , O) dla barwy pomarańczowej, a odpowiadające im recesywne allele oznaczono (y y_1 y_2 , io o). W części ksylemowej korzenia, geny dla nie pomarańczowej barwy (Y Y_1 Y_2), są epistatyczne w stosunku do genów barwy pomarańczowej (IO O). W obecności homozygotycznych recesywnych alleli dla barwy nie pomarańczowej (yy y_1y_1 y_2y_2), geny (IO O) warunkują zabarwienie pomarańczowe. Natomiast homozygota recesywna (yy y_1y_1 y_2y_2 io io oo) musi być również pozbawiona pomarańczowego zabarwienia.

Analiza rozszczepień barwy w tkance floemowej wykazała, że epistaza genów nie pomarańczowej barwy w stosunku do genów barwy pomarań-

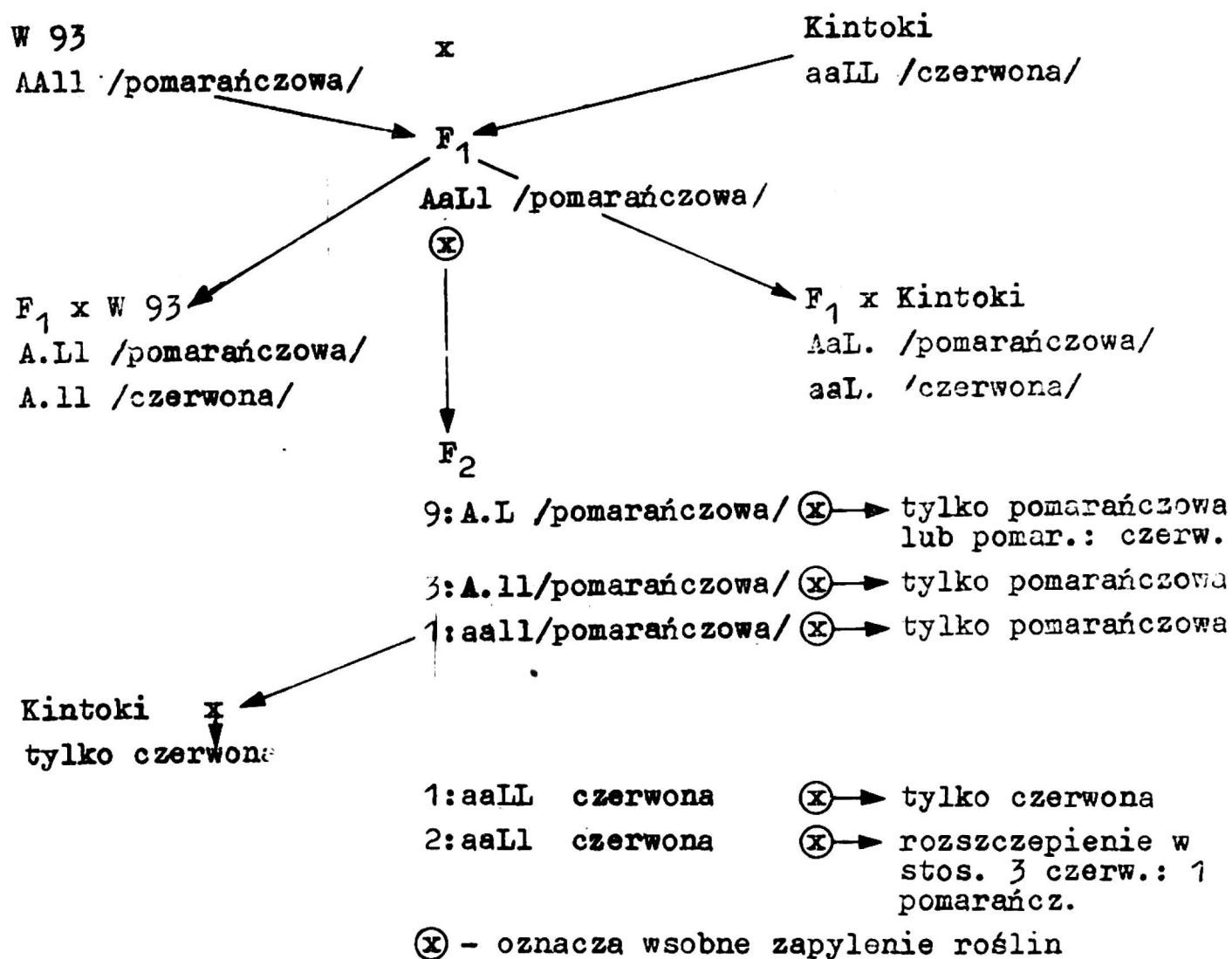
czowej nie jest tak silna jak w ksylemie. Stwierdzono natomiast powiązanie bazujące na kumulatywnym efekcie dwu grup genów. Obecność lub brak pomarańczowej barwy we floemie zależy od wzajemnej proporcji liczby dominujących alleli genów nie pomarańczowych w stosunku do liczby dominujących alleli genów barwy pomarańczowej. Aby ujawnił się pomarańczowy barwik we floemie w obecności dominujących alleli (Y), liczba dominujących alleli (IO i O) musi przewyższać liczbę dominujących alleli ($Y Y_1 Y_2$). Jeżeli (Y) locus jest homozygotycznie recesywny, to pomarańczowa barwa wystąpi we floemie tylko w tym przypadku, gdy liczba dominujących alleli (IO i O) w genotypie rośliny jest równa lub większa niż liczba dominujących alleli (Y_1 i Y_2).

Genotyp linii roślin W 93 był ustalony i we wszystkich przypadkach stwierdzono, że miały one skład $yy y_1y_1 y_2y_2 io io OO$. Natomiast linia G 61006 okazała się heterozygotyczną pod względem genów warunkujących barwę i w zależności od wyników prowadzonych krzyżowań testowych wykazano, że rośliny fenotypowo żółto-białe miały skład:

$Y Y Y_1y_1 Y_2Y_2 IO io oo$
 $Y Y Y_1Y_1 Y_2Y_2 IO IO oo$
 $Y Y Y_1Y_1 Y_2Y_2 io io oo$
 $Y Y y_1y_1 Y_2Y_2 IO io oo$
 $Y y y_1y_1 Y_2Y_2 IO io oo$
 $Y y Y_1y_1 Y_2Y_2 IO IO oo$
 $Y y Y_1Y_1 Y_2Y_2 IO io oo$

Dziedziczenie barwy przy krzyżowaniu marchwi o pomarańczowych i czerwonych korzeniach

Do badań genetycznych [20, 21, 22] użyto czerwono zabarwioną odmianę marchwi uprawianej w Japonii: Kintoki Osaka (KOS), Kintoki Heian Nagabuto (KHN) i Kintoki Davis (KDA) oraz linię wsobną o pomarańczowej barwie korzenia W 93. W pokoleniu F_1 , barwa pomarańczowa korzenia dominowała nad czerwoną a w pokoleniu F_2 stwierdzono rozszczepienia w stosunku 13 roślin o korzeniu pomarańczowym do 3 roślin o korzeniu czerwonym. Wyniki segregacji w pokoleniu F_3 oraz w krzyżowaniach wstecznych pozwoliły na postawienie dwu genowej hipotezy wyjaśniającej różnice w zabarwieniu form rodzicielskich (rys. 1). Locus z dominującym pomarańczowym allelem (A) jest epistatyczny w stosunku do locus z dominującym allelem (L) dla barwy czerwonej. Homozygota recesywna (aa 11) jest również pomarańczowa.



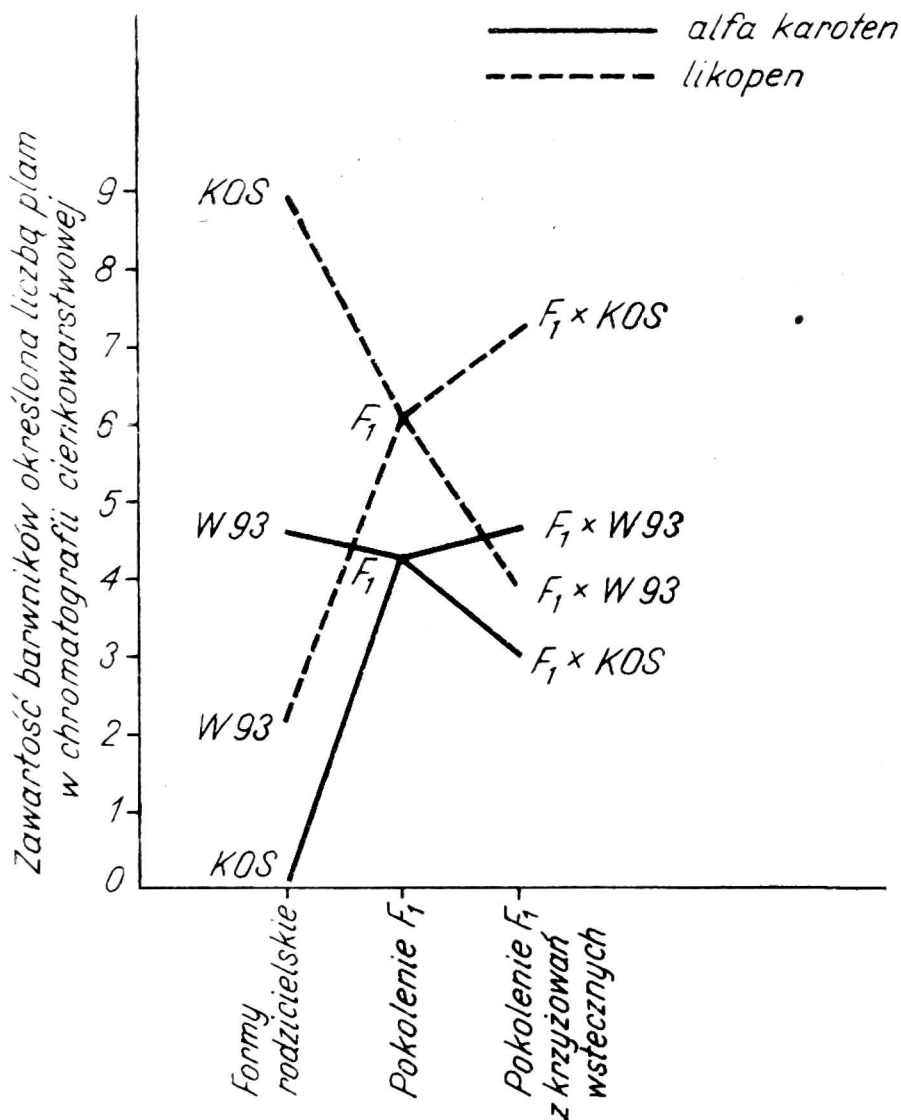
Rys. 1. Schemat genetycznej hipotezy dla wyjaśnienia sposobu dziedziczenia barwy korzeni przy krzyżowaniu marchwi pomarańczowej (W 93) i czerwonej (Kintoki).

Dziedziczenie zawartości karotenoidów

Dla poznania stopnia powiązania między genotypem rośliny a zawartością w niej karotenoidów, w badaniach Gabelmana i współpracowników, równoległe z oceną wizualną barwy prowadzono oznaczenia zawartości karotenoidów. Analizy wykonywano indywidualnie dla każdej rośliny [10, 16, 20] lub też łączono próby pobrane z korzeni tej samej klasy barwy (Kust i Gabelman msk.). W tym przypadku badano oddzielnie część floemową i ksylemową.

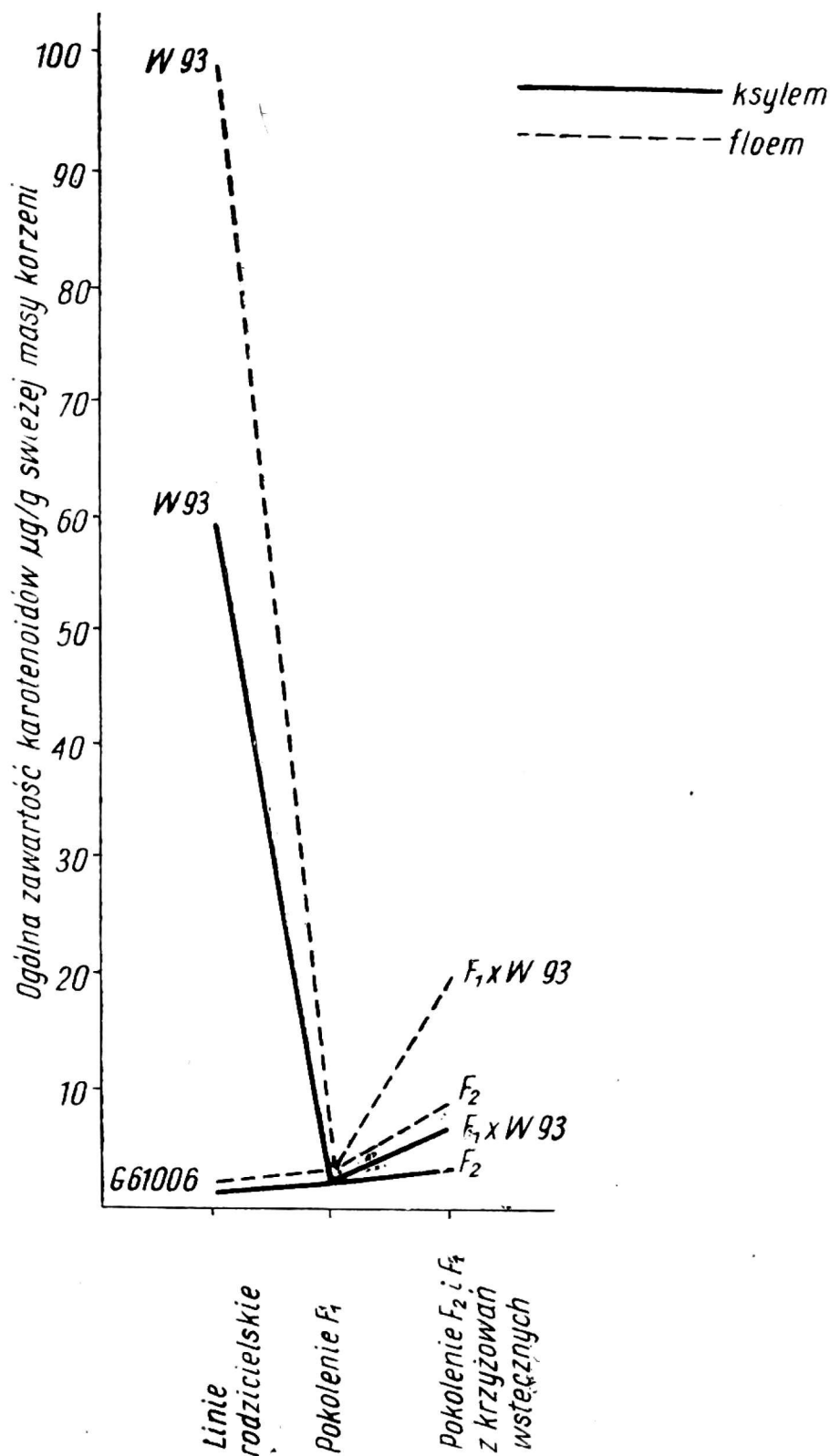
Najściślejsze powiązanie między składem genetycznym a obecnością specyficznych barwników stwierdzono przy krzyżowaniu marchwi pomarańczowej (W 93) z czerwoną (odmiany typu Kintoki). Głównym barwnikiem odmiany Kintoki jest likopen, poza tym stwierdzono występowanie małej frakcji beta-karotenu oraz ślady zeta-karotenu, gamma-karotenu i fitofluenu. W linii W 93 głównym barwnikiem jest beta-karoten, mała

frakcja alfa-karotenu, zeta-karotenu i fitoflenu oraz ślady gamma-karotenu i likopenu. Badania genetyczne i analiza składu barwików w potomstwach mieszańcowych wskazują na dwu genową hipotezę dziedziczenia barwików. W tym przypadku wydaje się słusznym przypuszczenie, że jeden gen odpowiada za syntezę jednego barwika. Czyli obecność dominującego allelu genu (A) warunkuje w korzeniach głównie syntezę alfa-karotenu, natomiast dominujący allel genu (L) syntezę likopenu (2).



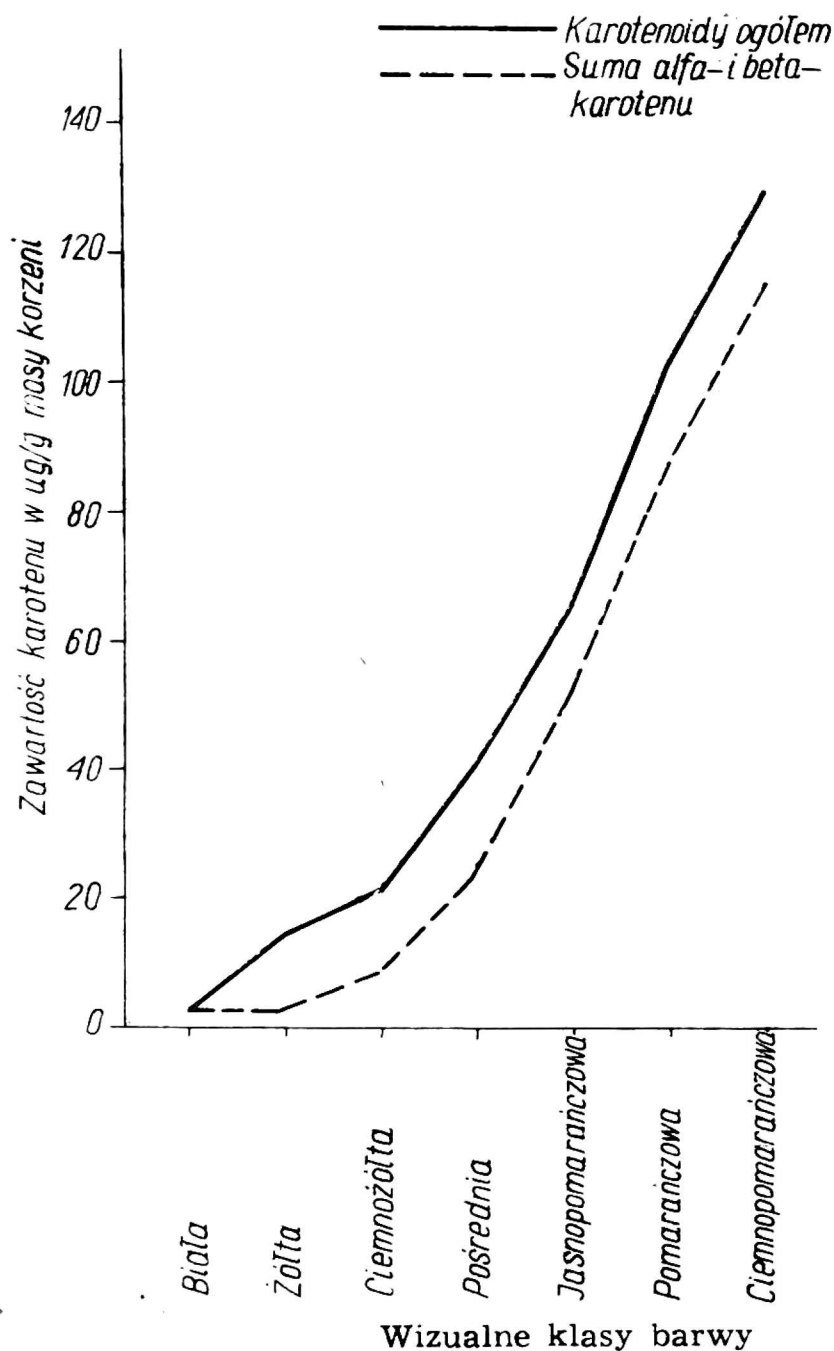
Rys. 2 Zawartość alfa-karotenu i likopenu w formach rodzicielskich i potomstwie mieszańców

Odmiany o białych, korzeniach zawierające dominujący allel genu (Y) nazwany dominującym inhibitorem syntezy karotenoidów (Gabelman 1972), posiadają bardzo małą zawartość karotenoidów, przy czym głównym ich składnikiem jest ksantofil. Przekazują one tą właściwość na rośliny pokolenia F₁ (rys. 3) wraz ze wzrostem intensywności zabarwienia korzeni. Od barwy żółtej po ciemnopomarańczową wzrasta w korzeniach zawartość karotenoidów, a głównie beta- i alfa-karotenu (rys. 4). Równocześnie ze wzrostem natężenia barwy powiększa się dysproporcja w nagromadzeniu barwików w części floemowej i ksylemowej (rys. 5). Geny



Rys. 3. Zawartość karotenoidów w liniach rodzicielskich i kolejnych pokoleniach mieszańców (wg. Kust, Gabelman)

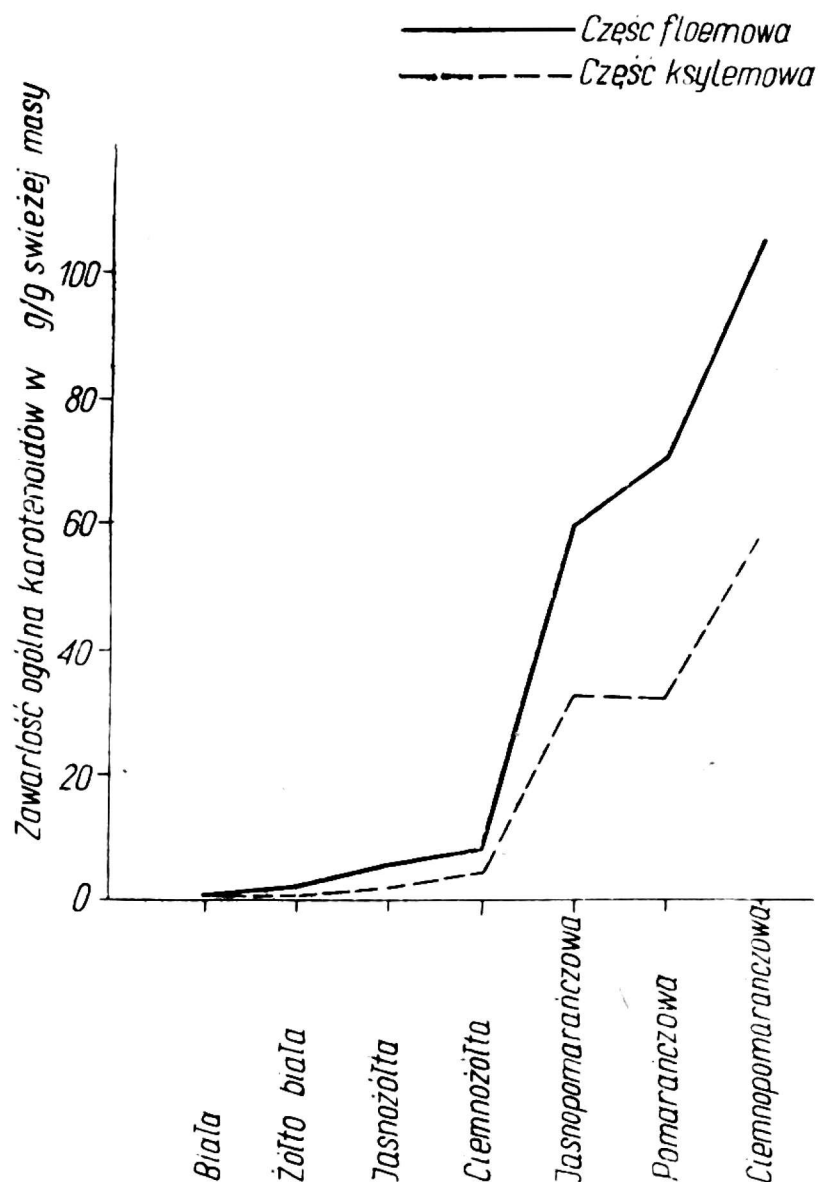
warunkujące wystąpienie barwy białej (Y) lub pośredniej między biało-żółtą a pomarańczową (Y₁ Y₂) ograniczają równocześnie możliwości akumulacji barwników karotenoidowych w korzeniach. Ich ogólna zawartość w korzeniach nie pomarańczowych wynosi najwyżej około 60 µg/g świeżej masy. Natomiast obecność dominujących alleli genów barwy pomarańczowej (IO, O) w obecności recesywnych alleli dla barwy niepomarańczowej (yy y₁y₁ y₂y₂) warunkuje nagromadzenie w korzeniach marchwi barwników karotenowych nawet do 240 µg/g [8].



Rys. 4. Ogólna zawartość karotenoidów oraz alfa- i beta-karotenu w siedmiu klasach barwy korzeni marchwi (wg. Laferriere 1965).

Wzajemny stosunek barwników karotenowych w korzeniach marchwi

Aktywność biologiczna (wartość prowitaminowa) poszczególnych karotenów jest różna. Według Isteria [12] jest ona największa u beta-karotenu, a o połowę niższa dla alfa-karotenu i gamma-karotenu. Z punktu widzenia wartości dietetycznej marchwi, ważna jest nie tylko wysoka ogólna zawartość karotenoidów, ale również wzajemny stosunek poszczególnych barwników. Wyniki prowadzonych badań [8] wskazują na występowanie bardzo dużego zróżnicowania w proporcji poszczególnych karotenów. W odmianach o barwie pomarańczowej (najczęściej obecnie uprawianych) stosunek beta-karotenu do alfa-karotenu wynosi przeważnie 3:1. Wzajemna proporcja obu barwników może wahać się w bardzo szerokich granicach, a ogólnie można stwierdzić, że maleje ona przy wzroście ogólnej zawartości karotenoidów. Na przykład przy niskiej zawartości karoteno-



Rys. 5. Zawartość karotenoidów w części floemowej i ksylemowej korzenia marchwi (w $\mu\text{g/g}$ ś.m.)

Wizualne klasy barwy w grupie korzeni o równomiernym rozmieszczeniu barwnika

idów w granicach 30—50 $\mu\text{g/g}$) stosunek beta-karotenu do alfa-karotenu wynosi nawet 35:1. Natomiast przy wysokiej zawartości karotenoidów, maksymalna stwierdzona rozpiętość wynosi 8:1. W zróżnicowanych genetycznie dwustu badanych liniach hodowlanych marchwi, synteza alfa-karotenu nigdy nie przewyższała syntezy beta-karotenu, chociaż linie ze stosunkiem 1:1 występowały dość często.

Wzajemny stosunek obu barwników to cecha dość prosto dziedzicząca się, gdyż nawet względnie krótki chów wsobny pozwala na otrzymanie linii o ustalonej wzajemnej proporcji beta- i alfa-karotenu.

LITERATURA

1. Banga O.: Main types of the western carotene carrot and thier origin W. E. Tjeenk Willink. Zwolle, Netherlands. 1962.
2. Banga O., de Bruyn J. W.: Carotenogenesis in carrot roots. Neth. J. Agric. Sci. 12, 204—220, 1964.

3. Booth V. H.: Distribution of carotenoids in different parts of the carrot. *J. Sci. Food. Agr.* 2, 350—353, 1951.
4. Borthwick H. A., Emsweller S. L.: Carrot breeding experiments. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 30, 531—533, 1933.
5. Bradley G. A., Dyck R. L.: Carrot color and caretonoids as affected by variety and growing conditions. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93, 402—407, 1968.
6. Bradley G. A., Rhodes B. B.: Carotenes, xanthophylls and color in carrot varieties and lines as affected by growing temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 94, 63—65, 1969.
7. Emsweller S. L., Burrell P. C., Borthwick H. A.: Studies on the inheritance of color in carrots. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 33: 508—911, 1935.
8. Gabelman W. H.: The prospect for genetic engineering to improve nutritional value, Nutritional qualities of fresh fruits and vegetables. American Medical Association 1974 NY. Futura Publishing Company, Inc. 1972.
9. Hardh J. E., Hardh K.: Effects of radiation, day-length and temperature on plant growth and quality: A preliminary report. *Hort. Res.* 12, 25—42, 1972.
10. Imam M. K.: Inheritance of carotenoids in carrots, *Daucus carota* L. Ph. D. thesis Univ. of Wisconsin. 1965.
11. Imam M. K., Gabelman W. H.: Inheritance of carotenoids in carrots, *Daucus carota* L. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93, 419—428, 1968.
12. Ister O.: Carotenoids. Hoffmann — La Roche Co. Ltd, Bazylea, Szwajcaria. 1971.
13. Kríský K., Šveřepová G.: Křižení plané a kulturní mrkve. *Zahr. Listy* 1, 15—16, 1973.
14. Kust A. F., Gabelman W. H.: Inheritance and differential formation of color and associated pigments in xylem and phloem of carrots, *D. carota* L., maszynopis.
15. Lamprecht H., Svennson V.: The carotene content of carrots and its relation to various factors. *Agr. Hort. Genet.* 8, 74—108, 1950.
16. Laferriere L.: Inheritance of color, total carotenoids, alpha-carotene and beta-carotene in carrots (*Daucus carota* L.). Ph. D. thesis, Univ. of Wisconsin, maszynopis 1965.
17. Laferriere L., Gabelman W. H.: Inheritance of color, total carotenoids, alpha-carotene and beta-carotene in carrots, *Daucus carota* L. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 93, 408—418, 1968.
18. Michalik B.: Przyczyny występowania białych korzeni marchwi uprawnej. *Ogrodnictwo* 5, 138—139, 1972.
19. Thompson D. J.: Studies on the inheritance of male-sterility and other characters in the carrot, *Daucus carota* L. var. *sativa*. Ph. D. thesis Cornell Univ., 1960.
20. Umiel N.: Studies on the inheritance of root color and carotenoid biosynthesis in carrots, *Daucus carota* L. Ph. D. thesis, Univ. of Wisconsin, 1969.
21. Umiel N., Gabelman W. H.: Analytical procedures for detecting carotenoids of carrot (*Daucus carota* L.) roots and tomato (*Lycopersicum esculentum*) fruits. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 96, 702—704, 1971.
22. Umiel N., Gabelman W. H.: Inheritance of root color and carotenoid synthesis in carrot, *Daucus carota* L.: orange vs. red. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 97, 453—460, 1972.
23. Yamaguchi M., Sugiyama T.: The carotenoid contend of Kintoki and Kokubu varieties of carrots grown in Japan. *J. Hort. Assoc. Japan* 29: 310—312, 1960.