



УДК 531.19:575:633.854.78
DOI 10.25230/conf11-2021-49-54

**НАСЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТОКОФЕРОЛОВ В СЕМЕНАХ
ПОДСОЛНЕЧНИКА В ВОЗВРАТНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ**

Гордовская Н.Н., Перетягина Т.М., Коваленко Т.А.
ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК
nadezda_awyst@mail.ru

Целью работы являлось изучение наследования общего содержания токоферолов (ОСТ) в возвратных скрещиваниях селекционных линий подсолнечника. Наследование в поколении BC_1 с высокочисленным родителем осуществляется по типу промежуточного и сверхдоминирования (h/d от -0,53 до 2,81), с низкочисленным – по типу промежуточного и отрицательного сверхдоминирования (h/d от -0,59 до -1,48). Достоверная положительная корреляция между значениями рекуррентного родителя и BC_1 , равная 0,8 свидетельствует о наблюдаемом материнском эффекте. В поколении I_1BC_1 , обнаружена положительная и отрицательная трансгрессия.

Ключевые слова: подсолнечник, токоферолы, наследование, семена, корреляция.



Введение. Токоферолы – это жирорастворимые молекулы в виде четырёх структурных производных: альфа, бета, гамма и дельта, выполняющих различные биологические функции. Токоферолы служат антиоксидантами, уничтожая синглетный кислород и нейтрализуя пероксильные радикалы и препятствуя перекисному окислению липидов мембран [1; 2]. Альфа-токоферол – это форма с максимальным действием витамина Е, который наиболее полно усваивается нашим организмом [3]. В последние десятилетия произошло радикальное изменение в оценке биологической роли токохроманолов в растениях благодаря подробному описанию мутантных и трансгенных растений. У растений с дефицитом токоферолов наблюдаются изменения в прорастании и экспорте фотоассимилятов, а также в росте, старении листьев и реакциях растений на абиотические стрессы. Это позволяет предположить, что токоферолы могут влиять на ряд физиологических процессов в растениях [4]. Используя мутанты *vte1* и *vte2* *A. thaliana*, Sattler et al. показали, что токоферолы играют решающую роль в контроле степени перекисного окисления липидов во время прорастания и раннего роста проростков, но зрелые растения очень хорошо адаптируются к дефициту токоферола за счет индукции компенсаторных механизмов [1].

Альфа-токоферол может играть важную роль в фотозащите, что проявляется, когда компенсаторные механизмы, такие как диссипация энергии, не работают [5]. Обнаружены механизмы действия альфа-токоферола, которые не зависят от его антиоксидантной функции, такие как регуляция связанных с мембраной сигнальных путей и модуляция экспрессии генов [6].

В отличие от большинства масличных семян, которые в основном накапливают гамма- и дельта-токоферолы [7], в семенах подсолнечника в основном накапливается альфа-токоферол, на который приходится более 90 % токоферолов в семенах подсолнечника [8]. Основные компоненты масла семян триацилглицеролы и токоферолы не связаны биосинтетически [9; 10]. Предыдущие исследования не выявили корреляции между содержанием масла и токоферолов в семенах подсолнечника [8; 11].

Velasco L. et al. (2010) в ряду самоопыленных поколений идентифицировали линию IAST-413 с повышенным количеством токоферолов (467 мг/кг), а также линию IAST-522 с мутацией сниженного содержания токоферолов (73,4 мг/кг семян) по сравнению с 250,9 мг/кг в семенах дикого типа [12]. Во ВНИИМК после четырех поколений индивидуального дизруптивного отбора были выделены линии I_5 *imi-1* и *imi-2* с повышенным (410 и 341 мг/кг), а также линии КГ27 и ВК561 с пониженным (178 и 189 мг/кг) содержанием токоферолов в ядрах семян [11]. Del Moral L. et al. сообщают о наличии, как минимум, двух генов, контролирующих увеличение содержания токоферолов в семенах [13].

Целью работы является изучение наследования содержания токоферолов в ядрах семян подсолнечника в поколении BC_1 и I_1BC_1 .

Материалы и методы. Исследование проводили на центральной базе ВНИИМК в г. Краснодаре в 2017–2018 гг. Опыт закладывали по общепринятой методике в пятипольном севообороте. Из 29 самоопыленных линий подсолнечника с различным содержанием токоферолов были выделены три линии с пониженным (ВК653В, ВК639, СЛ₀₇383) и три с повышенным ОСТ (СЛ₀₈1858, ВК591, Л690). Используемые образцы содержали не менее 95 % α -токоферола в семенах от общего количества. В 2016 г. были произведены реципрокные скрещивания линий с контрастным содержанием токоферолов и получены гибриды F_1 . В 2017 г. произведены возвратные скрещивания и получены семена BC_1 по две корзинки от каждой комбинации. Все скрещивания проводились с применением ручной кастрации. В 2018 г. получены семена от 12 возвратных скрещиваний I_1BC_1 . На трехрядковых делянках отбирали по 20 корзинок, которые изолировали, самоопыляли и обмолачивали при уборке индивидуально.

Общее содержание токоферолов в семенах определяли согласно модификации разработанного во ВНИИМК метода. Для чего 1 г ядер подсолнечника из средней пробы корзинки тонко измельчали в пируэте. Из средней пробы семян отобрали навеску 200 мг. В



мерную пробирку (10 см³ с притёртой пробкой) с навеской добавляли 5 мл гексана, настаивали не менее 8 часов при периодическом помешивании. Через 8 часов из пробирки отбирали 1 мл гексанового слоя, последовательно добавляли 3 мл этилового спирта, 0,5 мл 0,25 % раствора α, α -дипиридила в абсолютном спирте и 0,5 мл 0,1 % хлорного железа (FeCl_3) в абсолютном спирте. После выдерживания в темноте 20 минут измеряли оптическую плотность окрашенного раствора на спектрофотометре ПЭ-5400ви. Параллельно определяли величину оптической плотности раствора в пустом опыте. Расчет общего содержания токоферолов производили по формуле, учитывая, что продукт реакции 1 г α -токоферола в 1 л спирта в вышеуказанных условиях имеет оптическую плотность 39,7 при толщине слоя 1 см.

В этом случае содержание токоферолов в навеске из размолотых ядер семян (X) в мг/кг рассчитывали по формуле (1):

$$X = D \times V / 0,0397 \times H \times 5, \quad (1),$$

где: D – концентрация α -токоферола в анализируемом растворе;

V – объём раствора, мл;

H – масса навески, мг.

Оценка наследуемости в поколениях родитель-потомок оценивалась коэффициентом корреляции по Рокицкому [14].

Показатель степени доминирования признака рассчитывали по формуле, предложенной К. Мазером и Дж. Джинксом [15]. Полученные результаты обрабатывали с использованием компьютерной программы Excel.

Результаты и обсуждение. Существенные различия наблюдаются между значениями BC_1 на высокозначимого (с высоким ОСТ) и низкозначимого (с низким ОСТ) родителя в скрещивании линий СЛ₀₈1858 и ВК653В, т.е. разность между реципрокными комбинациями превышает значение $\text{НСР}_{05}(\text{BC})$ 64 мг/кг (табл. 1). Наследование в первом случае осуществляется по типу положительного сверхдоминирования ($h/d=1,99$ и $2,81$), во втором – отрицательного сверхдоминирования ($h/d=-1,24$ и $-1,48$). Значения BC_1 (325 и 327 мг/кг) значимо не отличаются от рекуррентного родителя ВК653В (357 мг/кг), тогда как в обратных скрещиваниях значения BC (532 и 580 мг/кг) достоверно отличаются от высокозначимого рекуррентного родителя СЛ₀₈1858 (474 мг/кг), превосходя соответствующие значения НСР_{05} .

В реципрокной комбинации линий ВК591 и ВК639В наблюдается подобная ситуация: при нанесении пыльцы на высокозначимого родителя в BC_1 наблюдали наследование по типу сверхдоминирования ($h/d=1,42$ и $1,50$), на низкозначимого родителя – по промежуточному типу ($h/d=-0,18$ и $-0,58$). Значения реципрокных BC_1 для этой группы скрещиваний существенно различаются между собой, превосходя величину $\text{НСР}_{05}(\text{BC})$ 41 мг/кг. В возвратных скрещиваниях с линиями ВК639В и ВК591 значение BC_1 достоверно отличается только в одной комбинации – с рекуррентным родителем ВК639В (247 мг/кг), при $\text{BC}_1 = 354$ мг/кг.

Наследование в BC_1 в комбинации линий Л690 и СЛ₀₇383 отличается от предыдущих комбинаций: при скрещивании с высокозначимым родителем наследование происходило по типу промежуточного ($h/d=-0,53$ и $0,55$), с низкозначимым степень доминирования принимала значения $-0,59$ и $0,93$. В двух из четырех комбинаций в этой группе скрещиваний значения BC_1 значимо отличаются от рекуррентного родителя, превышая НСР_{05} , в двух других – существенных различий нет. Специфичность реакций на опылителя привела к большому разбросу в значениях BC_1 как между одинаковыми рекуррентными родителями СЛ₀₇383 и Л690, так и их реципрокными комбинациями, что подтверждает значение $\text{НСР}_{05}(\text{BC})$, равная 44 мг/кг.

Найдена тесная связь между значениями BC_1 и рекуррентных родительских линий, коэффициент корреляции равен 0,8, т.е. наблюдается материнский эффект.



Таблица 1. Наследование общего содержания токоферолов в BC_1 в скрещивании линий с контрастным значением признака

ЦЭБ ВНИИМК, г. Краснодар, 2017 г.

Скрещивание	ОСТ, мг/кг				h/d
	P	BC_1	HCP ₀₅	HCP ₀₅ (BC)	
ВК653В × (СЛ ₀₈ 1858 × ВК653В)	357	343	45	64	-1,24
ВК653В × (ВК653В × СЛ ₀₈ 1858)	357	329	46		-1,48
СЛ ₀₈ 1858 × (СЛ ₀₈ 1858 × ВК653В)	474	580	41		2,81
СЛ ₀₈ 1858 × (ВК653В × СЛ ₀₈ 1858)	474	532	52		1,99
ВК639В × (ВК591 × ВК639В)	247	354	52	41	-0,18
ВК639В × (ВК639В × ВК591)	247	302	61		-0,58
ВК591 × (ВК591 × ВК639В)	510	565	53		1,42
ВК591 × (ВК639В × ВК591)	510	576	56		1,5
СЛ ₀₇ 383 × (СЛ ₀₇ 383 × Л690)	279	307	34	44	-0,59
СЛ ₀₇ 383 × (Л690 × СЛ ₀₇ 383)	279	413	38		0,93
Л690 × (СЛ ₀₇ 383 × Л690)	418	387	41		0,55
Л690 × (Л690 × СЛ ₀₇ 383)	418	312	42		-0,53

HCP₀₅ – наименьшая существенная разница между родительскими линиями и значениями BC_1 , HCP₀₅(BC) – между значениями BC_1 в одной группе скрещиваний

Изменчивость ОСТ в поколении I_1BC_1 варьировала в широких пределах – от 193 до 605 мг/кг, размах составил 412 мг/кг (табл. 2). Среднее значение изменялось от 346 до 501 м/кг, CV изменялся от 11 до 20 %. При расщеплении обнаружены генотипы, превосходящие родительские по степени выраженности, т.е. почти во всех популяциях поколения I_1BC_1 наблюдается двусторонняя трансгрессия. Трансгрессия составила в разных комбинациях от 5 до 194 мг/кг или 3–61 %. Усреднённые значения в поколении I_1BC_1 существенно не отличаются от среднеродительских, за исключением возвратного скрещивания на линию ВК591.

Таблица 2. Наследование общего содержания токоферолов в I_1BC_1 в скрещивании линий с контрастным значением признака (n=20)

ЦЭБ ВНИИМК, г. Краснодар, 2018 г.

Скрещивание	ОСТ, мг/кг					CV, %
	P	I_1BC_1	HCP ₀₅	Min	Max	
ВК653В × (ВК653В × СЛ ₀₈ 1858)	327	381	39	316	461	13
ВК653В × (СЛ ₀₈ 1858 × ВК653В)	327	388	38	268	501	16
СЛ ₀₈ 1858 × (СЛ ₀₈ 1858 × ВК653В)	453	424	41	238	559	18
СЛ ₀₈ 1858 × (ВК653В × СЛ ₀₈ 1858)	453	419	37	343	532	13
ВК639В × (ВК639В × ВК591)	325	405	49	314	560	17
ВК639В × (ВК591 × ВК639В)	325	419	46	318	552	15
ВК591 × (ВК591 × ВК639В)	493	476	47	313	568	13
ВК591 × (ВК639В × ВК591)	493	501	44	400	591	11
СЛ ₀₇ 383 × (СЛ ₀₇ 383 × Л690)	290	346	48	193	430	17
СЛ ₀₇ 383 × (Л690 × СЛ ₀₇ 383)	290	432	53	318	605	19
Л690 × (Л690 × СЛ ₀₇ 383)	479	409	46	299	493	12
Л690 × (СЛ ₀₇ 383 × Л690)	479	384	52	240	525	20

Средние значения поколения I_1BC_1 в 9-ти из 12-ти комбинаций достоверно не отличаются от среднеродительских, следовательно наблюдаем эффект аддитивного действия генов.

При скрещивании с низкочисленным рекуррентным родителем (ВК653В и ВК639) частота встречаемости генотипов с пониженным ОСТ выше, в то время как в скрещиваниях с высокочисленной родительской линией (СЛ₀₈1858 и ВК591) больше генотипов с повышенным ОСТ (рис.).

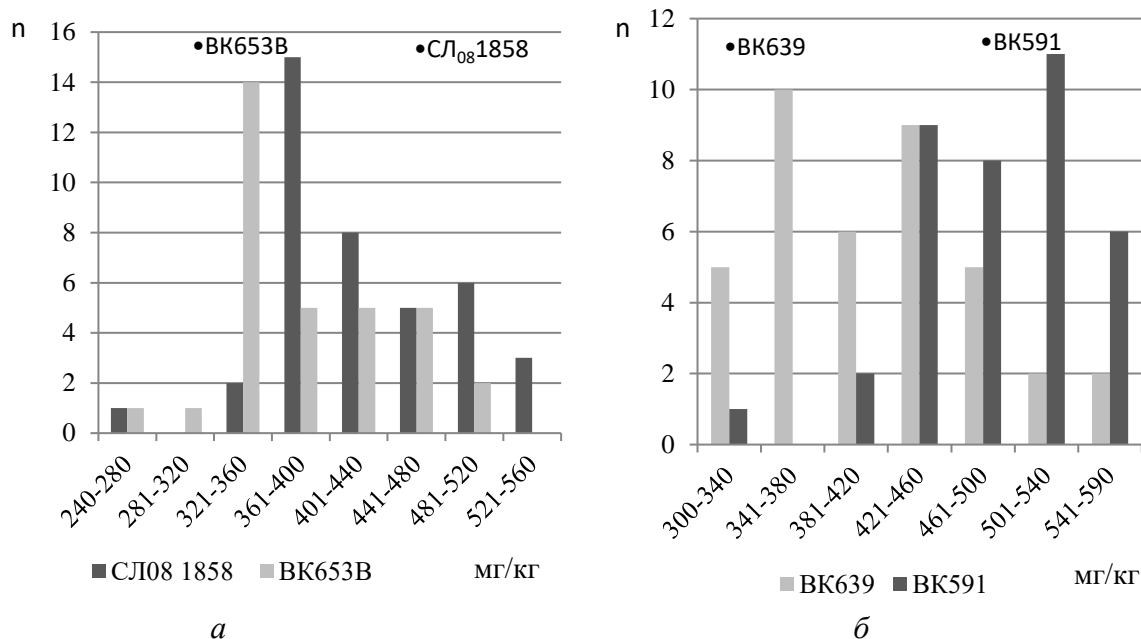


Рисунок – Наследование ОСТ в I_1BC_1 в скрещивании линий СЛ₀₈1858 и ВК653В (а); ВК591 и ВК639 (б), 2018 г.

Заключение. Тесная сопряженная изменчивость величин ОСТ рекуррентного родителя и первого поколения возвратного скрещивания ($r=0,8$) свидетельствует о наличии материнского эффекта. Увеличенные пределы варьирования, от 193 до 605 мг/кг, обнаруженные при трансгрессии в поколении I_1BC_1 , свидетельствуют о потенциально более широкой изменчивости, которая может проявиться при рекомбинации генов. Средние величины в расщепляющемся поколении I_1BC_1 почти во всех случаях близки к среднеродительским, что может говорить об эффекте аддитивного действия генов.

Благодарности. Работа выполнена под руководством доктора биологических наук, профессора Я.Н. Демурина.

Литература

1. Sattler S.E., Gilliland L.U., Magallanes-Lundback M., Pollard M., DellaPenna D. Vitamin E is essential for seed longevity and for preventing lipid peroxidation during germination // *The Plant Cell*. – 2004. – V. 16. – P. 1419–1432.
2. Krieger-Liszka A, Trebst A. Tocopherol is the scavenger of singlet oxygen produced by the triplet states of chlorophyll in the PSII reaction centre // *Journal of Experimental Botany*. – 2006. – V. 57. – P. 1677–1684.
3. Kamal-Eldin A., Appelqvist L., The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols // *Lipids*. – 1996. – V. 31. – P. 671–701.
4. Falk J., Munne-Bosch S. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond // *Journal of Experimental Botany*. – 2010. – V. 61. – P. 1549–1566.
5. Golan T., Muller-Moule P., Niyogi K. Photoprotection mutants of *Arabidopsis thaliana* acclimate to high light by increasing photosynthesis and specific antioxidants // *Plant, Cell and Environment*. – 2006. – V. 29. – P. 879–887.
6. Azzi A. Molecular mechanism of α -tocopherol action // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – V.43. – P. 16–21.
7. Padley F.B., Gunstone F.D., Harwood J.L. Occurrence and characteristics of oils and fats // *The Lipid Handbook*, Chapman & Hall, London. – 1994 – P. 47–223.



8. Velasco L., Fernández-Martínez J.M., García-Ruíz R., Domínguez J. Genetic and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial hybrids // *J. Agr. Sci.* – 2002. – V.139. – P. 425–429.
9. DellaPenna D., Pogson B.J. Vitamin synthesis in plants: tocopherols and carotenoids // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 711 – 738.
10. Somerville C., Browse J., Jaworski J.G., Ohlrogge J.B. Lipids. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (Eds B. B. Buchanan, W. Gruissem & R. L. Jones) // American Society of Plant Physiologists. – 2000. – P. 456–527.
11. Демури́н Я.Н., Перетягина Т.М., Гордовская Н.Н. Изменчивость содержания токоферолов в семенах линий подсолнечника // *Масличные культуры.* – 2018. – Вып. 4 (176). – С. 20–22.
12. Velasco L., Del Moral L., Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M. Selection for contrasting seed tocopherol content in sunflower seeds // *Journal of Agricultural Science.* – 2010. – V. 148. – P. 393–400.
13. Del Moral L., Pérez-Vich B., Fernández-Martínez J.M., Velasco L. Inheritance of increased seed tocopherol content in sunflower line IAST-413 // *Plant Breeding.* – 2011. – V. 130 (5). – P. 540–543.
14. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: Высшая школа, 1978. – 448 с.
15. Мазер К., Джинкс Дж. Биометрическая генетика. – М.: Мир. – 1985. – 463 с.

INHERITANCE OF TOCOPHEROL CONTENT IN SUNFLOWER SEEDS IN RETURN CROSSING

Gordovskaya N.N., Peretyagina T.M., Kovalenko T.A.

The aim of this work was to study the inheritance of the total tocopherol content (TTC) in backcrosses of sunflower breeding lines. Inheritance in the BC₁ generation with a highly significant parent is carried out according to the type of intermediate and overdominance (h/d from -0.53 to 2.81), with low significance – according to the type of intermediate and negative overdominance (h/d from -0.59 to -1, 48). A significant positive correlation between the values of the recurrent parent and BC₁, equal to 0.8, indicates the observed maternal effect. In the I₁BC₁ generation, positive and negative transgression was found.

Key words: sunflower, tocopherol, inheritance, seeds, correlation.