

УДК 633.854.78:575

МАТЕРИНСКИЙ ЭФФЕКТ В НАСЛЕДОВАНИИ ПРИЗНАКА СРЕДНЕОЛЕИНОВОСТИ МАСЛА В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА У ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Я.Н. Демури́н,

доктор биологических наук

О.М. Бори́сенко,

кандидат биологических наук

Ю.В. Чеба́нова,

аспирант

А.Н. Леву́цкая,

научный сотрудник

ФГБНУ ВНИИМК

350038, Россия, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17
Тел.: (861) 274-55-94

E-mail: yakdemurin@yandex.ru

Для цитирования: Демури́н Я.Н., Бори́сенко О.М., Чеба́нова Ю.В., Леву́цкая А.Н. Материнский эффект в наследовании признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов первого поколения // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2016. – Вып. 1 (165). – С. 16–21.

Ключевые слова: олеиновая кислота, материнский эффект, масло, семена, линия.

Целью работы являлось изучение закономерностей наследования признака среднеолеиновости масла в семенах F_1 для научного обеспечения селекции подсолнечника на улучшение качества масла. Использовали четыре константные инбредные линии генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК с различным содержанием олеиновой кислоты: низкоолеиновую RHA416 (28,2 %), повышеноолеиновую VK678 (47,8 %), среднеолеиновую ЛГ27 (66,1 %) и высокоолеиновую ЛГ26 (88,1 %, мутация *Ol*). Жирно-кислотный состав определяли методом газо-жидкостной хроматографии метиловых эфиров на хроматографе «Хром-5». При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с низкоолеиновой RHA416 в F_1 установлено достоверное отличие в реципрокных скрещиваниях по содержанию олеиновой кислоты на 21,4 %. При этом реципрокные значения F_1 отклонялись в сторону материнского родительского фенотипа. Наследование изучаемого при-

знака в F_1 относилось к промежуточному типу. При скрещивании ЛГ27 с линией VK678 с повышенным содержанием олеиновой кислоты в пределах обычного фенотипического класса, разница в реципрокных F_1 составила в среднем за два года 5,9 %. Отклонение также было направлено в сторону материнской линии, и наследование изучаемого признака в F_1 относилось к промежуточному типу. При скрещивании ЛГ27 с высокоолеиновой линией ЛГ26 в реципрокных F_1 наблюдали ожидаемое доминирование мутации высокоолеиновости. Использование линии ЛГ27 в качестве материнской формы увеличило содержание олеиновой кислоты в F_1 до 90 %. Степень материнского эффекта признака среднеолеиновости линии ЛГ27, при оценке через отношение h/d , варьировала от 0,48 до 0,79 при нанесении пыльцы линий RHA416 и VK678. Следовательно материнский эффект признака среднеолеиновости линии ЛГ27 не является полным. При нанесении на линию ЛГ27 пыльцы высокоолеиновой линии ЛГ26 наблюдается синергизм мутации *Ol* и признака среднеолеиновости ($h/d = 1,18$), что привело к сверхдоминированию, т.е. превышению значения содержания олеиновой кислоты у гибрида F_1 по отношению к высокоолеиновой родительской линии ЛГ26.

UDC 633.854.78:575

Maternal effect in inheritance of mid-oleic acid content in the F_1 seeds of sunflower

Demurin Ya.N., doctor of biology

Borisenko O.M., candidate of biology

Chebanova Yu.V., post-graduate student

Levutskaya A.N., researcher

FGBNU VNIIMK

17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 274-55-94

E-mail: yakdemurin@yandex.ru

Key words: oleic acid, maternal effect, oil, seeds, line.

The aim of this work was to study the patterns of inheritance of the mid-oleic content in F_1 seed oil for scientific support of sunflower breeding to improve the quality of the oil. Four constant inbred lines of sunflower from VNIIMK genetic collection with different content of oleic acid were used: low oleic RHA416 (28.2%), increased oleic VK678 (47.8%), mid-oleic LG 27 (66.1%) and high oleic LG26 (88.1%, *Ol* mutation). Fatty acid composition was determined by gas-liquid chromatography of methyl esters on the chromatograph Chrom-5. When crossing mid-oleic line LG27 with low oleic RHA416, a significant difference in reciprocal crosses of F_1 on the content of oleic acid on 21.4% was found. While re-

reciprocal indexes F_1 deviated towards the maternal parent phenotype. The inheritance of the studied trait in the F_1 belonged to intermediate type. When crossing lines LG27 and VK678 with an increased content of oleic acid within a normal phenotypic class, the difference in reciprocal F_1 averaged over two years was 5.9 %. The deviation was also directed towards a female and inheritance of the studied trait in the F_1 belonged to intermediate type. When LG27 was crossed with the high oleic line LG26, in reciprocal F_1 the expected dominance of the high oleic mutations was observed. The use of line LG27 as maternal forms increased the content of oleic acid in F_1 up to 90 %. The degree of maternal effect of mid-oleic trait of line LG27, as the h/d ratio, ranged from 0.48 to 0.79 when applying the pollen of RHA416 and VK678 lines. Thus, the maternal effect of mid-oleic trait of the LG27 line is not complete. When LG27 line was crossed with a high oleic LG26 line, synergism of mutation *Ol* and mid-oleic trait was observed (h/d = 1,18), which led to overdomination, i.e. exceeding the values of oleic acid content in the F_1 hybrid regarding to high oleic male lines LG26.

Введение. В настоящее время в мировом промышленном производстве существует три типа подсолнечного масла: обычное, высокоолеиновое (high oleic) и среднеолеиновое (mid-oleic). Обычное подсолнечное масло по жирно-кислотному составу относится к линолевому типу и содержит от 48 до 74 % линолевой (цис-9-цис-12-окта-декадиеновая, C18:2) кислоты от общей суммы [1]. Современные высокоолеиновые гибриды, происходящие из сорта Первенец, накапливают до 90 % олеиновой кислоты (цис-9-октодеценная C18:1) в масле семян [2]. Данный тип подсолнечного масла («high oleic») обладает большей оксидостойкостью по сравнению с традиционным и хорошо подходит для жарки и консервации. Третий тип масла – среднеолеиновый, широко распространен за рубежом и по действующему международному стандарту CODEX Stan 210 содержит около 43–72 % олеиновой кислоты. В генотипах линий и гибридов, используемых для получения данного масла, содержится мутация высокоолеиновости *Ol* [3].

Среднеолеиновое подсолнечное масло NuSun – это натуральная разновидность масла, которое было выпущено на рынок в

1999 г. в США в соответствии с изменяющимися потребностями пищевой промышленности [4]. Это масло обладает сбалансированным сочетанием высокого уровня окислительной стабильности и оптимальным содержанием эссенциальной линолевой кислоты, а также оно свободно от транс-жиров. Кроме того, содержание линолевой кислоты на уровне около 18–20 % придает пище удовлетворяющие потребителей вкусовые качества [5]. Подсолнечник данного типа занимает более 80 % посевных площадей этой культуры в США, а также возделывается в Канаде.

В 1976 г. во ВНИИМК при использовании метода химического мутагенеза впервые в мире был создан высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец [6]. Этот сорт с содержанием олеиновой кислоты около 70 % был неоднородным по составу биотипов и относится по современной классификации к среднеолеиновому типу. Сорт Первенец стал уникальным донором признака высокоолеиновости – около 84 % в селекционных программах во всем мире.

В результате гибридологического анализа был установлен моногенный контроль мутации высокоолеиновости, обозначенной *Ol* [7]. Дальнейшее изучение наследования этого признака дало возможность идентифицировать ген-модификатор *Ml*, гомозиготное рецессивное состояние которого позволяет надежно проявляться мутации высокоолеиновости в относительно холодных условиях [8]. Гипотеза о трех комплементарных генах была предложена испанскими учеными для объяснения различных типов расщепления у гибридов второго поколения и в беккроссах [9].

Во ВНИИМК показано неполное проявление доминантной мутации высокоолеиновости *Ol* в гетерозиготе за счет действия нестабильного супрессора, находящегося в геноме некоторых нормальных линий [10].

Генетическая коллекция инбредных линий подсолнечника ВНИИМК по признаку состава жирных кислот в семенах

разделяется по следующим фенотипическим классам по содержанию олеиновой кислоты: мутантный высокоолеиновый – около 84 %, нормальный с повышенным содержанием – 60 %, нормальный с обычным содержанием – 35 %, а также нормальный с пониженным содержанием – 25 %. Различные условия выращивания одинаправленно изменяют средние значения, не приводя к перекрытию классов. При этом высокоолеиновый фенотип является относительно термостабильным [11].

В США среднеолеиновые гибриды NuSun получают путем скрещивания инбредных линий, одна из родительских форм при этом высокоолеиновая, а другая линолевая. За счет расщепления в F_2 в товарных семенах образуется жирно-кислотный состав масла с содержанием олеиновой кислоты на уровне 60 %.

В лаборатории биохимической генетики ВНИИМК из образца K2210 коллекции ВИР путем индивидуального отбора и самоопыления получена инбредная линия ЛГ27, характеризующаяся фенотипической среднеолеиновостью (около 67 % С18:1) и не обладающая мутацией *Ol*. Первые исследования привели к гипотезе, что признак повышенного содержания олеиновой кислоты линии ЛГ27 контролируется рецессивным аллелем, обозначенным *ol¹*, отличающимся от мутантного аллеля *Ol* и аллеля дикого типа *ol* [12].

Получены экспериментальные доказательства существования у подсолнечника трёх генетически контролируемых фенотипических классов по содержанию олеиновой кислоты в масле семян: обычному низкоолеиновому – около 34 % (линия ВК580), повышенноолеиновому – около 69 % (ЛГ27) и высокоолеиновому – около 87 % (ЛГ26). В скрещивании линий ЛГ27 × ЛГ26 наблюдались моногенность и рецессивность признака повышенноолеиновости без материнского эффекта. В реципрокном скрещивании линий ЛГ27 и ВК580 впервые описан полный материнский эффект в F_1 и BC_1 без материнского наследования признака в F_2 [13].

Целью данной работы являлось изучение закономерностей наследования признака среднеолеиновости масла в семенах F_1 для научного обеспечения селекции подсолнечника на улучшение качества масла.

Материалы и методы. Использовали четыре константные линии генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК с различным жирно-кислотным составом масла в семенах: низкоолеиновую РНА416, повышенноолеиновую ВК678, среднеолеиновую ЛГ27 и высокоолеиновую ЛГ26 (мутация *Ol*).

Родительские растения изолировали за несколько дней до начала цветения – в фазе появления краевых цветков из-под обёртки. Нижние края индивидуального сетчатого изолятора из синтетического волокна «Спанбонд» плотно обжимали по стеблю и обвязывали шнуром с этикеткой. На этикетке указывали данные о растении, номер деланки, дату изоляции. Гибридизацию проводили с использованием ручной кастрации. В некоторых случаях, при достаточно больших различиях скрещиваемых форм по срокам цветения, пыльцу собирали в пергаментный пакет и хранили в холодильнике при + 5 °С до семи дней. В полевых условиях 2013 и 2014 гг. получены реципрокные гибриды первого поколения от скрещиваний линии ЛГ27 с линиями разных фенотипических классов по содержанию олеиновой кислоты.

Для анализа состава жирных кислот использовали отдельные семена самоопыленных и гибридных корзинок (по 10 семян из каждой из двух корзинок на линию или комбинацию скрещиваний).

Определение жирно-кислотного состава масла проводили с помощью газожидкостной хроматографии метиловых эфиров жирных кислот. Для этого использовался хроматограф «Хром-5» с пламенно ионизационным детектором, интегрированным с АЦП и компьютерной программой Хроматэк Аналитик 2.5. Для анализа состава жирных кислот ис-

пользовали целые отдельные семена и средние пробы семян (25 штук). Навеску помещали в пробирку, добавляли 20–30 мг Na₂SO₄, растирали с помощью стеклянной палочки содержимое, после чего приливали 0,2 мл раствора КОН (3 Н.) в метаноле, 1 мл гексана и выдерживали пробирку, периодически встряхивая, при комнатной температуре два часа. Затем добавляли 0,2 мл воды, содержимое в пробирке центрифугировали в течение 4 мин на скорости 3000 оборотов, и отбирали верхний гексановый слой с метиловыми эфирами жирных кислот. Растворитель упаривали под вентилятором, остаток растворяли в определенном объеме гексана и вводили в хроматограф посредством микрошприца. Условия хроматографирования: температура термостата колонки 184 °С; расход азота, как газа-носителя – 30 мл/мин, водорода – 25 мл/мин; стеклянная колонка длиной 1,5 метра и диаметром 3 мм; жидкая фаза – этиленгликольсукцинат (15 %) на твердом носителе Хроматон-N с дисперсностью 0,1 мм.

Результаты и обсуждение. При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с низкоолеиновой RHA416 в F₁ установлено достоверное отличие в реципрокных скрещиваниях по содержанию олеиновой кислоты на 21,4 %. При этом реципрокные значения F₁ отклонялись в сторону материнского родительского фенотипа (табл. 1). Наследование изучаемого признака в F₁ относилось к промежуточному типу.

Таблица 1

Содержание олеиновой кислоты в масле семян реципрокных F₁ и родительских линий RHA416 и ЛГ27

ВНИИМК, г. Краснодар, 2013–2014 гг.

Генотип	Содержание олеиновой кислоты, %		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013–2014 гг.
RHA416	22,9	33,4	28,2
F ₁ (RHA416 × ЛГ27)	33,1	42,9	38,0
F ₁ (ЛГ27 × RHA416)	56,1	62,6	59,4
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	2,6	3,2	-

При скрещивании ЛГ27 с линией ВК678 с повышенным содержанием олеиновой кислоты в пределах обычного фенотипического класса разница в реципрокных F₁ составила в среднем за два года 5,9 %. Отклонение также было направлено в сторону материнской линии (табл. 2). Наследование изучаемого признака в F₁ классифицировалось как промежуточное.

Таблица 2

Содержание олеиновой кислоты в масле семян реципрокных F₁ и родительских линий ВК678 и ЛГ27

ВНИИМК, г. Краснодар, 2013–2014 гг.

Генотип	Содержание олеиновой кислоты, %		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013–2014 гг.
ВК678	47,3	48,3	47,8
F ₁ (ВК678 × ЛГ27)	57,3	54,5	55,9
F ₁ (ЛГ27 × ВК678)	62,0	61,5	61,8
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	3,0	3,5	-

При скрещивании ЛГ27 с высокоолеиновой линией ЛГ26 в реципрокных F₁ наблюдали ожидаемое доминирование мутации высокоолеиновости. Кроме того, использование линии ЛГ27 в качестве материнской формы увеличило содержание олеиновой кислоты в F₁ до 90 % (табл. 3).

Таблица 3

Содержание олеиновой кислоты в масле семян реципрокных F₁ и родительских линий ЛГ26 и ЛГ27

ВНИИМК, г. Краснодар, 2013–2014 гг.

Генотип	Содержание олеиновой кислоты, %		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013–2014 гг.
ЛГ26	88,2	87,9	88,1
F ₁ (ЛГ26 × ЛГ27)	85,0	86,5	85,8
F ₁ (ЛГ27 × ЛГ26)	90,4	89,5	90,0
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	1,8	1,1	-

Наличие достоверных различий между значениями реципрокных F₁ говорит о материнском эффекте. Показатель степени материнского эффекта признака рассчитывали по формуле, предложенной

К. Мазером и Дж. Джинксом [14], как отношение h/d , где h – отклонение фенотипа F_1 от среднего (m) между ранжированными родителями P_1 и P_2 , а d – половина разности между родителями P_1 и P_2 или модуль разности любого родителя и m (рисунок).

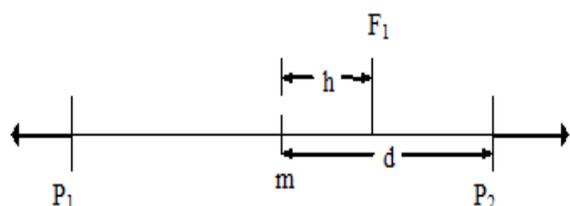


Рисунок – Степень материнского эффекта h/d

Степень материнского эффекта признака среднеолеиновости линии ЛГ27, при оценке через отношение h/d , варьировала от 0,48 до 0,79 при нанесении пыльцы обычных линий RHA416 и BK678 (табл. 4). Это позволяет сделать вывод о том, что материнский эффект линии ЛГ27 не является полным (< 100 %) и генотип пыльцы также имеет значение в наследовании признака. Однако при нанесении на линию ЛГ27 пыльцы высокоолеиновой линии ЛГ26 наблюдается синергизм мутации *Ol* и признака среднеолеиновости ($h/d = 1,18$), что приводит к сверхдоминированию, т.е. превышению значения содержания олеиновой кислоты у гибрида F_1 по отношению к высокознаковой родительской линии ЛГ26.

Таблица 4

Материнский эффект (h/d) в наследовании признака среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27

ВНИИМК, г. Краснодар, 2013–2014 гг.

Генотип	h/d		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013–2014 гг.
F_1 (ЛГ27 × RHA416)	0,54	0,79	0,67
F_1 (ЛГ27 × BK678)	0,56	0,48	0,52
F_1 (ЛГ27 × ЛГ26)	1,20	1,15	1,18

Заключение. Наследование признака среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27 в F_1 при скрещивании с низкоолеи-

новой RHA416 и повышеноолеиновой BK678 характеризуется промежуточным типом. Существенные различия в реципрокных F_1 указывают на сильный материнский эффект. В скрещивании линии ЛГ27 с высокоолеиновой ЛГ26 наблюдали явление сверхдоминирования.

Благодарности. Авторы признательны заведующему лабораторией биохимии кандидату биологических наук С.Г. Ефименко за содействие в проведении анализов жирно-кислотного состава.

Список литературы

- ГОСТ 30623-98. Масла растительные и маргариновая продукция (метод обнаружения фальсификации).
- Andre Berville. Oil Composition Variations // In: Genetics, genomics and breeding of sunflower / Ed. J. Hu, G. Seiler and C. Kole. – Science Publisher, 2010. – P. 253–277.
- Miller J.F., Vick B.A. Registration of four mid-range oleic acid sunflower genetic stocks // Crop Science. – 2002. – V. 42. – No 3. – P. 994.
- Fernandez-Martinez J.M., Perez-Vich B., Velasco L. Sunflower // In: Oil Crops, Handbook of Plant Breeding, V. 4 / Ed. J. Vollmann and I. Rajcan. – Springer, 2009. – P. 155–232.
- Kleingartner L.W. NuSun sunflower oil: Redirection of an industry // J. Janick, A. Whipkey (eds.). Trends in new crops and new uses. – ASHS Press, Alexandria, VA. 2002. – P. 135–138.
- Солдатов К.И., Воскобойник Л.К., Харченко Л.Н. Высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец // Бюл. НТИ по масличным культурам. – 1976. – Вып. 3. – С. 3–7.
- Fick G.N. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower // Proc. of Sunflower Res. Workshop, National Sunflower Association, Bismarck, ND. – 1984. – P. 9.

8. Miller J.F., Zimmerman D.C., Vick B.A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil // *Crop Science*. – 1987. – Vol. 27. – No 5. – P. 923–926.

9. Fernandez-Martinez J., Jimenez A., Dominguez J. [et al.]. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Euphytica*. – 1989. – Vol. 41. – P. 39–51.

10. Демури́н Я.Н., Попов П.С., Ефименко С.Г. Гибридологический анализ признака высокоолеиновости масла семян подсолнечника // *Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. – 2001. – Вып. 125. – С. 3–20.

11. Demurin Ya., Borisenko O. Genetic collection for oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2011. – V. 34. – No 55. – P. 69–74.

12. Demurin Ya., Skorik D., Veresbaranji I., Jovic S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.

13. Демури́н Я.Н., Борисенко О.М. Наследование повышенного содержания олеиновой кислоты в масле семян подсолнечника // *Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. – 2011. – Вып. 2 (148–149). – С. 72–74.

14. Мазер К., Джинкс Дж. Биометрическая генетика. – М.: Мир, 1985. – 463 с.

References

1. Masla rastitelnye i margarinovaya produkcija (metod obnaruzheniya falsifikacii).

2. Andre Berville. Oil Composition Variations // In: Genetics, genomics and breeding of sunflower / Ed. J. Hu, G. Seiler and C. Kole. – Science Publisher, 2010. – P. 253–277.

3. Miller J.F., Vick B.A. Registration of four mid-range oleic acid sunflower genetic stocks // *Crop Science*. – 2002. – V. 42. – No 3. – P. 994.

4. Fernandez-Martinez J.M., Perez-Vich B., Velasco L. Sunflower // In: Oil Crops,

Handbook of Plant Breeding, V. 4 / Ed. J. Vollmann and I. Rajcan. – Springer, 2009. – P. 155–232.

5. Kleingartner L.W. NuSun sunflower oil: Redirection of an industry // J. Janick, A. Whipkey (eds.). Trends in new crops and new uses. – ASHS Press, Alexandria, VA. 2002. – P. 135–138.

6. Soldatov K.I., Voskoboynik L.K., Kharchenko L.N. Vysokooleinovyi sort podsolnechnika Pervenets // *Byulleten NTI po maslichnym kulturam*. – Krasnodar. – 1976. – Vyp. 3. – S. 3–7.

7. Fick, G.N. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower // Proc. of Sunflower Res. Workshop, National Sunflower Association, Bismarck, ND. – 1984. – P. 9.

8. Miller J.F., Zimmerman D.C., Vick B.A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil // *Crop Science*. – 1987. – Vol. 27. – No 5. – P. 923–926.

9. Fernandez-Martinez J., Jimenez A., Dominguez J. [et al.]. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Euphytica*. – 1989. – Vol. 41. – P. 39–51.

10. Demurin Ya.N., Popov P.S., Efimenko S.G. Gibridologicheskiyi analiz priznaka vysokooleinovosti masla semyan podsolnechnika // *NTB VNIIMK*. – 2001. – Vyp. 125. – S. 3–20.

11. Demurin Ya., Borisenko O. Genetic collection for oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2011. – V. 34. – No 55. – P. 69–74.

12. Demurin Ya., Skorik D., Veresbaranji I., Jovic S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.

13. Demurin Ya.N., Borisenko O.M. Nasledovanie povyshennogo soderzhaniya oleinovoyi kisloty v masle semyan podsolnechnika // *Maslichnye kultury. NTB VNIIMK*. – 2011. – Vyp. 2 (148–149). – S. 72–74.

14. Mather K., Jinks J. Biometricheskaya genetic. – М.: Мир, 1985. – 463 с.