Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

УДК 633.854.78:575

DOI 10.25230/2412–608X–2018–3–175–3–8

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКА СРЕДНЕОЛЕИНОВОСТИ МАСЛА В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА У ГИБРИДОВ ВТОРОГО И ТРЕТЬЕГО ПОКОЛЕНИЙ

Я.Н. Демури́н,
доктор биологических наук
О.М. Бори́сенко,
кандидат биологических наук
Ю.В. Чеба́нова,
научный сотрудник

ФГБНУ ФНЦ 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. Наследование признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов второго и третьего поколений // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – Вып. 3 (175). – С. 3–8.

Ключевые слова: олеиновая кислота, скрещивание, потомство, масло, семена.

Работа посвящена изучению закономерностей наследования признака среднеолеиновости масла в семенах F_2 и F_3 для научного обеспечения селекции подсолнечника на улучшение качества масла. Использовали пять константных инбредных линий генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК с различным содержанием олеиновой кислоты: низкоолеиновые RHA416 и ЛГ28 (33 %), повышеноолеиновую ВК678 (48 %), среднеолеиновую ЛГ27 (66 %) и высокоолеиновую ЛГ26 (88 %, мутация *Ol*). Жирно-кислотный состав определяли методом газо-жидкостной хроматографии метиловых эфиров на хроматографе Хром-5. При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с низкоолеиновой RHA416 между реципрокными F_2 различий в характере расщепления по содержанию олеиновой кислоты в отдельных семенах не наблюдали. Это свидетельствует об отсутствии материнского наследования признака

среднеолеиновости. Установлена отрицательная трансгрессия. Однопиковое распределение значений F_2 , совпадающих со среднеродительским, указывает на аддитивный характер наследования признака. При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с повышеноолеиновой ВК678 реципрокные F_2 показали отсутствие материнского наследования среднеолеиновости с аддитивным эффектом. В реципрокных скрещиваниях F_2 среднеолеиновой линии ЛГ27 и высокоолеиновой ЛГ26 наблюдали однотипные расщепления на два дискретных фенотипических класса – среднеолеиновый и высокоолеиновый. В обоих F_2 присутствует сверхдоминирование признака с коэффициентом $h/d = 1,2$, что выражается в положительной трансгрессии с появлением семян в супервысокоолеиновом фенотипическом классе от 90 до 95 %. Это связано с рекомбинационным объединением в F_2 генов высокоолеиновости и среднеолеиновости. В скрещиваниях ЛГ27 с низкоолеиновой линией ЛГ28 и с обычной ВК678 коэффициент корреляции содержания олеиновой кислоты $r_{F_2-F_3}$ варьировал от незначительных значений до средней положительной величины 0,54. При гибридизации с высокоолеиновой линией ЛГ26 коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$ принимал только высокие положительные значения – до 0,88.

UDC 633.854.78:575

Inheritance of mid-oleic acid trait in sunflower hybrid seeds of the second and third generation.

Ya.N. Demurin, doctor of biology
O.M. Borisenko, PhD in biology
Yu.V. Chebanova, researcher

All-Russian research institute of oil crops by
Pustovoi V.S. (VNIIMK)
17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia
Tel.: (861) 274-55-94
E-mail: yakdemurin@yandex.ru

Key words: oleic acid, crossing, progeny, oil, seed.

We studied regularities of inheritance of the mid oleic content in of F_2 and F_3 seeds for scientific provision of sunflower breeding for oil quality improvement. Five constant inbred lines of the sunflower genetic collection of VNIIMK with different oleic acid contents were used: low oleic RHA416 and LG28 (33%), increased oleic VK678 (48%), mid oleic LG27 (66%) and high oleic LG26 (88%, *Ol* mutation). We determined fatty acid composition by gas-liquid chromatography of methyl esters on a Chrom-5 chromatograph. When crossing mid oleic LG27 with low oleic RHA416 there was not differences between reciprocal F_2 in the type of inheritance of oleic acid content in individual seeds. This indicates the absence of a maternal inheritance of the trait of mid oleic content. Negative transgression is established. The single-peak distribution of F_2 values, as well as those coinciding with the mean values, indicate the additive

nature of inheritance of the trait. When crossing the mid oleic LG27 with an increased oleic VK678, the reciprocal F_2 showed no maternal inheritance of the mid oleic content with an additive effect. In the reciprocal F_2 of crosses mid oleic LG27 and high oleic LG26, the same type of segregation was observed for two discrete phenotypic classes, the mid oleic and the high oleic. In both F_2 , there is overdomination of the trait with a coefficient of $h/d = 1.2$, which is expressed in a positive transgression with the appearance of seeds in the super-high-oleic phenotypic class from 90 to 95%. This is due to the recombination association in the F_2 genes of high oleic and mid oleic content. In crosses of LG27 with low oleic LG28 and normal VK678, the correlation coefficient of oleic acid content $r_{F_2-F_3}$ varied from unvalued to a positive value of 0.54. In hybridization with the high oleic line of LG26, the correlation coefficient $r_{F_2-F_3}$ took only high positive values to 0.88.

Введение. Современные селекционные программы по подсолнечнику ориентированы на получение сортов и гибридов с измененным качеством масла в семенах. Перспективным направлением в генетике и селекции этой культуры является изучение признака среднеолеиновости и создание гибридов с данным типом масла.

Генетическая коллекция ВНИИМК включает 50 константных инбредных линий с различным жирнокислотным профилем семян. Содержание олеиновой кислоты в масле колеблется от 20 до 92 %. Инбредные линии подсолнечника подразделяются на четыре генетически контролируемых фенотипических класса по содержанию олеиновой кислоты в масле семян: мутантный высокоолеиновый (около 84 %), среднеолеиновый (60 %), обычный (35 %), низкоолеиновый (25 %). Среднеолеиновый класс содержит только одну линию ЛГ27, не обладающую мутацией *Ol* [1]. Demurin et al. (2000) была предложена гипотеза о том, что признак повышенного содержания олеиновой кислоты линии ЛГ27 контролируется рецессивным аллелем, обозначенным *ol*^l, отличающимся как от мутации *Ol*, так и от аллеля дикого типа *ol* [2]. В другой работе, проведен ряд реципрокных скрещиваний линии ЛГ27 с обычной низкоолеиновой линией ВК580 и получе-

ны данные о полном материнском эффекте в F_1 и BC_1 без материнского наследования признака в F_2 . При этом в скрещивании линий ЛГ27 и высокоолеиновой линии ЛГ26 наблюдались моногенность и рецессивность признака повышеноолеиновости без материнского эффекта [3].

Позже в результате проведенных нами исследований было установлено, что наследование в F_1 признака среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27 при скрещивании с низкоолеиновой РНА416 и повышеноолеиновой ВК678 характеризуется промежуточным типом. Достоверные различия в реципрокных F_1 указывали на сильный материнский эффект. В скрещивании линии ЛГ27 и ЛГ26 в F_1 наблюдали явление сверхдоминирования [4].

Целью данной работы являлось продолжение изучения закономерностей наследования признака среднеолеиновости масла в семенах следующих поколений F_2 и F_3 для научного обеспечения селекции подсолнечника на улучшение качества масла.

Материалы и методы. Использовали пять константных линий генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК с различным жирно-кислотным составом масла в семенах: низкоолеиновые (33 %) РНА416 и ЛГ 28, повышеноолеиновую (48 %) ВК678, среднеолеиновую (66 %) ЛГ27 и высокоолеиновую (88 %, мутация *Ol*) ЛГ26.

В полевых условиях растения принудительно самоопыляли. Растения изолировали за два дня до цветения в фазе появления краевых цветков из-под обертки изоляторами из материала «Агроспан-бонд». На каждое растение привязывали этикетку, в которой указывали номер деланки, время начала цветения и другие данные о растении. Принудительное самоопыление растений проводили раз в два дня.

В полевых условиях 2013 г. проведены реципрокные скрещивания линии ЛГ27 с

тремя линиями разных фенотипических классов по содержанию олеиновой кислоты. В 2014 г. получены семена F_2 . Для получения семян F_3 в 2015 г. отдельные семена F_2 , после определения жирно-кислотного состава в 1/3 части семядолей, были индивидуально высеяны в поле с последующим принудительным самоопылением каждого растения.

Для анализа состава жирных кислот использовали отдельные семена самоопыленных корзинок F_2 (по 40 семян на каждую из двух корзинок одной комбинации скрещиваний), 1/3 части семядолей семян F_2 и средние пробы семян F_3 (по 10 семян). Определение жирно-кислотного состава масла проводили с помощью газо-жидкостной 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. Навеску помещали в пробирку, добавляли 20–30 мг Na_2SO_4 , растирали с помощью стеклянной палочки содержимое, после чего приливали 0,2 мл раствора KOH (3N) 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 м и диаметром 3 мм; жидкая фаза – этиленгликольсукцинат (15 %) на твердом носителе Хроматон-N с дисперсностью 0,1 мм.

Показатель степени доминирования признака среднеолеиновости рассчитывали по формуле, разработанной К. Мазером и Дж. Джинксом [5], 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 (рис. 1).

Рисунок 1 – Степень доминирования h/d [5]

Показатель наследуемости определяли как квадрат коэффициента корреляции в ряду родитель – потомок [6].

Результаты и обсуждение. При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 (66 %) с низкоолеиновой RHA416 (33 %) между реципрокными F_2 различий в характере расщепления по содержанию олеиновой кислоты в отдельных семенах не наблюдали (рис. 2 и 3). Это свидетельствует об отсутствии материнского наследования признака среднеолеиновости. Кроме того, для обеих комбинаций F_2 ЛГ27 × RHA416 и RHA416 × ЛГ27 отмечено появление семян в низкоолеиновых фенотипических классах от 10 до 20 %, отсутствующих у родителей, что говорит об отрицательной трансгрессии. Положительной трансгрессии не обнаружено.

Однопиковое распределение значений F_2 , а также средние значения 52 и 49 % для комбинаций RHA416 × ЛГ27 и ЛГ27 × RHA416 соответственно, совпадающие со среднеродительскими 50 % олеиновой кислоты, указывают на аддитивный характер наследования признака.

Рисунок 2 – Расщепление в F₂
RNA416 × ЛГ27 по содержанию
олеиновой кислоты, n = 80

Рисунок 3 – Расщепление в F₂
ЛГ27 × RNA416 по содержанию
олеиновой кислоты, n = 80

При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с повышеноолеиновой ВК678 (48 %) реципрокные F₂ имели сходный характер наследования признака (рис. 4 и 5). Это также говорит об отсутствии материнского наследования среднеолеиновости. Положительной и отрицательной трансгрессии не наблюдали. Однопиковое распределение значений F₂, а также средние значения 61 и 57 % для комбинаций ВК678 × ЛГ27 и ЛГ27 × ВК678 соответственно, совпадающие со среднеродительскими 57 % олеиновой кислоты, также свидетельствуют об аддитивном эффекте.

Рисунок 4 – Расщепление в F₂
ВК678 × ЛГ27 по содержанию
олеиновой кислоты, n = 80

Рисунок 5 – Расщепление в F₂
ЛГ27 × ВК678 по содержанию
олеиновой кислоты, n = 80

В реципрокных скрещиваниях F₂ среднеолеиновой линии ЛГ27 и высокоолеиновой ЛГ26 (88 %) наблюдали однотипные расщепления на два дискретных фенотипических класса – среднеолеиновый и высокоолеиновый (рис. 6 и 7). В комбинации F₂ ЛГ26 × ЛГ27 расщепление достоверно соответствует соотношению 3 : 1 ($\chi^2 = 0,07$), т.е. наследованию доминантной мутации *Ol*. Во второй комбинации F₂ ЛГ27 × ЛГ26 отмечена нехватка семян в высокоолеиновом классе. В обоих F₂ присутствует сверхдоминирование признака с коэффициентом h/d = 1,2, что выражается в положительной трансгрессии с появлением семян в так называемом супервысокоолеиновом фенотипическом классе от 90 до 95 %. Это связано, вероятно, с рекомбинационным объединением в F₂ генов высокоолеиновости и среднеолеиновости.

Рисунок 6 – Расщепление в F₂
ЛГ26 × ЛГ27 по содержанию
олеиновой кислоты, n = 80

Рисунок 7 – Расщепление в F_2 ЛГ27 $\times$ ЛГ26 по содержанию олеиновой кислоты, $n = 80$

Хроматографический анализ состава жирных кислот семян F_3 от реципрокных скрещиваний среднеолеиновой линии ЛГ27 с тремя линиями разных фенотипических классов показал, что в семенах F_3 от скрещивания с низкоолеиновой линией ЛГ28 наблюдается континуальное распределение, без четкого разделения на два фенотипических класса с размахом варьирования на уровне 27–30 % (табл. 1). В семенах F_3 от скрещивания с линией ВК678 отмечен аналогичный характер распределения с интервалом 19–27 %. В реципрокных F_3 от скрещивания ЛГ27 с высокоолеиновой ЛГ26 также зафиксирована изменчивость без четкого разделения на фенотипические классы. При этом в F_3 ЛГ27 $\times$ ЛГ26 появляются семена с содержанием олеиновой кислоты на уровне 50–55 %, что существенно ниже, чем у линии ЛГ27 (отрицательная трансгрессия). С другой стороны, как и в семенах F_2 , отмечено появление супервысокоолеинового фенотипического класса от 90 до 95 % (положительная трансгрессия).

Таблица 1

Содержание олеиновой кислоты в семенах F_3 (самоопыленные корзинки растений F_2), %

г. Краснодар, ВНИИМК, урожай 2014 г., анализ 2015 г.

Генотип	Среднее	R	min	max	n
F_3 ЛГ27 $\times$ ЛГ28	46,5	30,4	34,9	65,3	33
F_3 ЛГ28 $\times$ ЛГ27	48,5	27,6	33,7	61,3	29
F_3 ЛГ27 $\times$ ВК678	56,6	19,0	44,8	63,8	31
F_3 ВК678 $\times$ ЛГ27	53,8	27,4	39,7	67,1	27
F_3 ЛГ27 $\times$ ЛГ26	78,3	39,6	51,2	90,8	24
F_3 ЛГ26 $\times$ ЛГ27	78,0	29,6	63,1	92,7	22

Сопоставление значений признака в отдельных семенах F_2 и самоопыленном потомстве F_3 позволило провести оценку наследуемости на основе корреляции в ряду родитель – потомок. В скрещиваниях линии ЛГ27 с низкоолеиновой ЛГ28 и с обычной ВК678 коэффициент корреляции содержания олеиновой кислоты $r_{F_2-F_3}$ варьировал от незначительных значений до средней положительной величины 0,54 (табл. 2). При гибридизации с высокоолеиновой линией ЛГ26 коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$ принимал только высокие положительные значения до 0,88, что обусловлено, вероятно, значительным влиянием мутации высокоолеиновости *Ol*.

Таблица 2

Корреляция содержания олеиновой кислоты в ряду родитель – потомок (F_2 - F_3) у подсолнечника

г. Краснодар, ВНИИМК, урожай 2014 г., анализ 2015 г.

Скрещивание	Коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$	Коэффициент детерминации (наследуемости) $d (h^2)$
ЛГ27 $\times$ ЛГ28	- 0,02	-
ЛГ28 $\times$ ЛГ27	0,54*	0,29
ЛГ27 $\times$ ВК678	0,26*	0,07
ВК678 $\times$ ЛГ27	- 0,10	-
ЛГ27 $\times$ ЛГ26	0,88*	0,77
ЛГ26 $\times$ ЛГ27	0,78*	0,61

* – достоверно на 5 %-ном уровне значимости

Закключение. При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с низкоолеиновой РНА416 между реципрокными F_2 различий в характере расщепления по содержанию олеиновой кислоты в отдельных семенах не наблюдали. Это свидетельствует об отсутствии материнского наследования признака среднеолеиновости. При этом отмечена отрицательная трансгрессия и аддитивный характер наследования признака.

При скрещивании среднеолеиновой линии ЛГ27 с повышеноолеиновой ВК678 реципрокные F_2 имели сходный характер наследования признака с аддитивным эффектом.

В реципрокных скрещиваниях F_2 среднеолеиновой ЛГ27 и высокоолеиновой ЛГ26 наблюдали однотипные расщепления на два дискретных фенотипических класса – среднеолеиновый и высокоолеиновый с положительной трансгрессией.

Сопоставление значений признака в отдельных семенах F_2 и самоопыленном потомстве F_3 позволило установить, что в скрещиваниях ЛГ27 с низкоолеиновой ЛГ28 и с обычной ВК678 коэффициент корреляции содержания олеиновой кислоты $r_{F_2-F_3}$ варьировал от незначительных значений до средней положительной величины 0,54. При гибридизации с высокоолеиновой линией ЛГ26 коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$ принимал только высокие положительные значения – до 0,88.

В целом, установленный в предыдущих исследованиях материнский эффект признака среднеолеиновости при скрещивании линий в F_1 не приводит к материнскому наследованию в F_2 и F_3 .

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

Работа частично выполнена в рамках Соглашения между Сколковским институтом науки и технологий и Министерством образования и науки РФ №14.609.21.0099 от «3» октября 2016 г.

Список литературы

1. Demurin Ya., Borisenko O. Genetic collection for oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2011. – V. 34. – No 55. – P. 69–74.
2. Demurin Ya., Skoric D., Veresbaranji I., Jovic S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.
3. Демури́н Я.Н., Борисе́нко 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.

4. Демури́н Я.Н., Борисе́нко О.М., Чеба́нова Ю.В., Ле́вуцкая А.Н. Материнский эффект в наследовании признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов первого поколения // *Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК*. – 2016. – Вып. 1 (165). – С. 16–21.

5. Мазе́р К., Джи́нкс Дж. Биометрическая генетика. – М.: Мир, 1985. – 463 с.

6. Рокитский П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Мн.: Вышэйш. школа, 1978. – 448 с.

References

1. Demurin Ya., Borisenko O. Genetic collection for oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2011. – V. 34. – No 55. – P. 69–74.
2. Demurin Ya., Skoric D., Veresbaranji I., Jovic S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.
3. Demurin YA.N., Borisenko O.M. Nasledovaniye povyshennogo soderzhaniya oleinovoy kisloty v masle semyan podsolnechnika // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2011. – Vyp. 2 (148–149). – S. 72–74.
4. Demurin YA.N., Borisenko O.M., Chebanova YU.V., Levutskaya A.N. Materninskiy effekt v nasledovanii priznaka sredneoleinovosti masla v semenakh podsolnechnika u gibridov pervogo pokoleniya // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2016. – Vyp. 1 (165). – S. 16–21.
5. Mazer K., Dzhinks Dzh. Biometricheskaya genetika. – M.: Mir, 1985. – 463 s.
6. Rokitskiy P.F. Vvedeniye v statisticheskuyu genetiku. – Mn.: Vysh'eysh. shkola, 1978. – 448 s.

Получено: 01.08.2018 Принято: 17.09.2018
Received: 01.08.2018 Accepted: 17.09.2018