Наследуемость содержания олеиновой кислоты в масле семян рекомбинантных инбредных линий подсолнечника

Я.Н. Демури,

зав. лабораторией, д-р биол. наук

Ю.В. Чебанова,

канд. биол. наук

О.М. Борисенко,

зав. лабораторией, канд. биол. наук

Т.А. Коваленко,

аспирант

О.А. Рубанова,

аспирант

Н.В. Рябовол,

аспирант

ФГБНУ ФНИЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17

Тел.: (861) 254-23-33

E-mail: vniimk@vniimk.ru

Для цитирования: Демури Я.Н., Чебанова Ю.В., Борисенко О.М., Коваленко Т.А., Рубанова О.А., Рябовол Н.В. Наследуемость содержания олеиновой кислоты в масле семян рекомбинантных инбредных линий подсолнечника // Масличные культуры. – 2020. – Вып. 3 (183). – С. 27–30.

Ключевые слова: олеиновая кислота, линия, скрещивание, мутация, коэффициент наследуемости.

Изучение наследуемости признака содержания олеиновой кислоты в масле семян у рекомбинантных инбредных линий является генетической основой эффективной селекционной работы на качество масла подсолнечника. Опыты проводили в полевых и лабораторных условиях во ВНИИМК, г. Краснодар в 2016–2020 гг. Использовали 17 рекомбинантных инбредных линий подсолнечника I₄ и I₅ поколений, полученных от скрещивания среднеолеиновой линии ЛГ27 и высокоолеиновой линии ЛГ26 с последующим самоопылением. Анализ жирно-кислотного состава масла семян подсолнечника проводили с использованием метода газожидкостной хроматографии метиловых эфиров на приборе Хроматэк-Кристалл 5000. Семнадцать рекомбинантных инбредных линий

подсолнечника показали в поколении I₄ широкое варьирование содержания олеиновой кислоты в масле средних проб семян – от 39,00 % (RIL-1) до 92,24 % (RIL-42) и линолевой – от 43,28 до 1,35 % соответственно. При этом в 2016 г. три линии характеризовались средним содержанием олеиновой кислоты – 55,64–65,54 %. Анализ жирно-кислотного состава масла в отдельных семенах следующего поколения I₅ этих линий подтвердил в целом их фенотипические ранги с размахом изменчивости от 32,18 до 92,15 % по содержанию олеиновой кислоты. Среднеолеиновые линии RIL-21, RIL-29 и RIL-30 также показали принадлежность к своему фенотипическому классу в 2019 г. в интервале значений от 59,80 до 63,14 %. Изучение сопряженной изменчивости значений олеиновой кислоты в ряду родителей – потомков в поколениях I₄–I₅ выявило наличие достоверной сильной положительной корреляции $r = 0,97$. При этом коэффициент детерминации, определяемый как квадрат коэффициента корреляции и оценивающий степень наследуемости признака, составил 0,95, что указывает на значительное влияние фактора генотипа в общем фенотипическом варьировании.

UDC 633.854.78:575

Heritability of oleic acid content in sunflower seed oil of recombinant inbred lines.

Ya.N. Demurin, doctor of Biology, head of the lab.

Yu.V. Chebanova, PhD in biology

O.M. Borisenko, PhD in biology, head of the lab.

T.A. Kovalenko, post-graduate student

O.A. Rubanova, post-graduate student

N.V. Ryabovol, post-graduate student

Key words: oleic acid, line, crossing, mutation, heritability coefficient.

The study of the heritability of the oleic acid content in seed oil in recombinant inbred lines is the genetic basis for effective breeding work on the quality of sunflower oil. The experiments were carried out under field and laboratory conditions in VNIIMK, Krasnodar, Russian Federation in 2016–2020. We used 17 recombinant inbred sunflower lines of I₄ and I₅ generations obtained from crossing a medium-oleic LG27 line and a high-oleic LG26 line with subsequent self-pollination. The fatty acid composition of sunflower seed oil was analyzed using the method of gas-liquid chromatography of methyl esters on the Chromatek-Kristall 5000 device. Seventeen recombinant inbred sunflower lines in generation I₄ showed a wide variation in the content of oleic acid in the oil of average seed samples from 39.00 % (RIL-1) to 92.24 % (RIL-42) and linoleic acid – from 43.28 to 1.35 %, respectively. In 2016, three lines were characterized

by an average oleic acid content of 55.64-65.54 %. Analysis of the fatty acid composition of oil in individual seeds of the next generation I_5 of these lines confirmed, in general, their phenotypic ranks with a range of variability from 32.18 to 92.15 % in the content of oleic acid. The middle oleic lines RIL-21, RIL-29 and RIL-30 also showed belonging to their phenotypic class in 2019 in the range of values from 59.80 to 63.14 %. The study of the conjugate variability of oleic acid values in the parent-progeny series in generations of I_4 – I_5 revealed the presence of a significant strong positive correlation $r = 0.97$. At the same time, the coefficient of determination, defined as the square of the correlation coefficient which evaluates the degree of heritability of a trait, was 0.95, which indicates a significant influence of the genotype factor in general phenotypic variation.

Введение. В последнее время в мире наблюдается повышение спроса на натуральные продукты питания. В промышленном производстве существует разделение подсолнечного масла на три типа по содержанию олеиновой кислоты: традиционное, среднеолеиновое и высокоолеиновое [1]. Среднеолеиновое масло по соотношению олеиновой и линолевой жирных кислот является аналогом эталона пищевых масел – оливкового, однако в подсолнечном масле содержание витамина Е в несколько раз выше. Главное преимущество нативного среднеолеинового масла состоит в оптимальном сочетании высокой окислительной стабильности и в наличии эссенциальной омега-6 линолевой кислоты без использования технологических процессов.

Подсолнечник типа NuSun со среднеолеиновым маслом занимает более 80 % посевных площадей этой культуры в США. В нашей стране данное направление только начинает развиваться, поэтому в генетике и селекции подсолнечника актуально изучение признака среднеолеиновости и создание гибридов с таким типом масла.

Общепризнанно, что с 1976 г., когда во ВНИИМК впервые в мире был создан высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец [2], берет начало новый этап в

селекции подсолнечника на качество масла. Изучению признака высокоолеиновости посвящено много работ в разных странах. В ряде исследований был описан сложный генетический контроль этого признака в различных комбинациях скрещиваний [3; 4; 5; 6]. Во ВНИИМК в результате проведенного гибридологического анализа установлено, что признак высокоолеиновости контролируется одним доминантным геном *Ol* с неполной пенетрантностью в гетерозиготе [7; 8; 9].

Изучению признака среднеолеиновости уделялось гораздо меньше внимания. Во ВНИИМК высказана гипотеза о том, что этот признак у линии ЛГ27 контролируется рецессивным аллелем, обозначенным ol^I , отличающимся как от мутации *Ol*, так и от аллеля дикого типа *ol* [10; 11]. Позже в результате проведенных нами исследований было установлено, что наследование в F_1 среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27 при скрещивании с низкоолеиновой RHA416 и повышенноолеиновой BK678 характеризуется промежуточным типом. Обнаружены достоверные различия в реципрокных F_1 , указывающие на материнский эффект линии ЛГ27. В скрещивании линии ЛГ27 и ЛГ26 в F_1 наблюдали явление сверхдоминирования [12].

Позже доказано, что коэффициент наследуемости содержания олеиновой кислоты h^2 в комбинациях скрещиваний ЛГ27 с RHA416 и BK678 был 0,07–0,29. При оценке коэффициента наследуемости в ряду родитель – потомок при гибридизации ЛГ27 и ЛГ26 получены высокие показатели – до 0,77, что свидетельствует о гетерогенности по изучаемому признаку в поколениях F_2 – F_3 и высокой эффективности отбора [13].

Дальнейшее самоопыление позволило нам получить набор константных рекомбинантных инбредных линий, изучение которых стало целью данной работы.

Материалы и методы. Опыты проводили в полевых и лабораторных условиях во ВНИИМК, г. Краснодар в период 2016–2020 гг. Выращивание и принудительное самоопыление растений выполняли по общепринятой методике.

Использовали 17 рекомбинантных инбредных линий (RIL) подсолнечника I₄ и I₅ поколений, полученных от скрещивания среднеолеиновой линии ЛГ27 и высокоолеиновой линии ЛГ26 с последующим самоопылением.

Определение жирно-кислотного состава масла семян подсолнечника проводили в лаборатории биохимии с использованием метода газожидкостной хроматографии метиловых эфиров на приборе Хроматэк-Кристалл 5000. Статистическую обработку данных выполнили в программе Microsoft Excel 2010. Значение наследуемости определяли как квадрат коэффициента корреляции в ряду родитель – потомок [14].

Результаты и обсуждение. Семнадцать рекомбинантных инбредных линий подсолнечника показали в поколении I₄ широкое варьирование содержания олеиновой кислоты в масле средних проб семян – от 39,00 % (RIL-1) до 92,24 % (RIL-42) и линолевой – от 43,28 до 1,35 % соответственно (табл. 1). При этом в 2016 г. три линии характеризовались средним содержанием олеиновой кислоты 55,64–65,54 %.

Анализ жирно-кислотного состава масла в отдельных семенах следующего поколения I₅ этих линий подтвердил в целом их фенотипические ранги с размахом изменчивости от 32,18 до 92,15 % по содержанию олеиновой кислоты (табл. 1). Важно, что среднеолеиновые линии RIL-21, RIL-29 и RIL-30 также показали принадлежность к своему фенотипическому классу в 2019 г. в интервале значений от 59,80 до 63,14 %.

Таблица 1

Содержание основных ненасыщенных жирных кислот в масле семян рекомбинантных инбредных линий подсолнечника (ЛГ27 × ЛГ26) в поколениях I₄ и I₅, %

ВНИИМК, г. Краснодар, урожай 2016, 2019 гг., анализ 2018, 2020 гг.

Генотип	Содержание жирных кислот в масле семян I ₄ , анализ в средних пробах, %		Содержание жирных кислот в масле семян I ₅ , посемяночный анализ (среднее из 10 семян), %	
	урожай 2016 г.		урожай 2019 г.	
	олеиновая	линолевая	олеиновая	линолевая
RIL-1	39,00	43,28	46,91	37,93
RIL-2	39,79	48,31	43,76	45,51
RIL-2/1	39,79	48,31	32,18	55,61
RIL-3	40,91	46,05	55,00	34,50
RIL-21	55,64	28,57	59,80	27,80
RIL-29	62,75	27,16	63,14	27,49
RIL-30	65,54	23,58	59,80	31,20
RIL-31	86,58	1,76	89,30	1,55
RIL-13	87,62	1,27	90,25	0,85
RIL-13/1	87,62	1,27	90,50	1,00
RIL-37	90,62	2,43	91,23	2,30
RIL-38	91,11	2,02	91,05	1,95
RIL-39	91,28	1,86	89,95	3,25
RIL-39/1	91,28	1,86	90,90	2,45
RIL-40	91,96	1,37	90,49	2,64
RIL-41	92,23	1,19	91,41	1,54
RIL-42	92,24	1,35	92,15	1,68
HCP ₀₅			1,90	

Изучение сопряженной изменчивости значений олеиновой кислоты в ряду родитель-потомок в поколениях I₄–I₅ выявило наличие достоверной сильной положительной корреляции $r = 0,97$ (табл. 2). При этом коэффициент детерминации, определяемый как квадрат коэффициента корреляции и оценивающий степень наследуемости признака, составил 0,95, что указывает на значительное влияние фактора генотипа в общем фенотипическом варьировании.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции и детерминации (наследуемости) содержания олеиновой кислоты в ряду родитель – потомок (I₄–I₅) у рекомбинантных инбредных линий подсолнечника

r	d (h ²)
0,97	0,95

Выводы. Главным компонентом в фенотипическом варьировании содержания олеиновой кислоты в масле семян у рекомбинантных инбредных линий подсолнечника в поколениях I_4 и I_5 при скрещивании ЛГ27 × ЛГ26 является генотипическая составляющая с высоким коэффициентом наследуемости 0,95 (h^2 в узком смысле слова), оценивающим долю аддитивной генотипической изменчивости.

Благодарности. Работа частично выполнена при финансовой поддержке регионального гранта РФФИ и администрации Краснодарского края р_Наставник № 19-416-235001.

Список литературы

1. CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS. Adopted 1999. Revisions 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011. – 16 p.
2. Солдатов К.И., Воскобойник Л.К., Харченко Л.Н. Высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец // Бюл. НТИ по масличным культурам. – 1976. – Вып. 3. – С. 3–7.
3. Urie A.L. Inheritance of very high oleic acid content in sunflower // Proc. of 6th Sunflower Research Forum. – 1984. – P. 9–10.
4. Fick G.N. Inheritance of high oleic acid in sunflower // Proc. 6th Sunflower Research. – 1984. – P. 9.
5. Miller J.F., Zimmerman D.C., Vick B.A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil // Crop Science. – 1987. – Vol. 27. – P. 923–926.
6. Fernandez-Martinez J.M., Jimenez A., Dominguez J. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Euphytica. – 1989. – Vol. 41. – P. 39–51.
7. Demurin Y., Škorić D. Unstable expression of Ol gene for high oleic acid content in sunflower seeds // Proc. of 14th International Sunflower Conference, 12–20 June, Beijing, Shenyang, China. – 1996. – P. 145–150.
8. Demurin Y., Efimenko S., Borisenko O. A screening for suppressor genotypes on a high oleic mutation in sunflower // Proc. of 16th International Sunflower Conference. – August 29–September 2, Fargo, ND, USA. 2004. – Vol. 2. – P. 779–782.
9. Демурин Я.Н. Генетический анализ и селекционное использование признаков состава жирных кислот и токоферолов в семенах подсолнечника: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – СПб, 1999. – 36 с.
10. Demurin Ya., Škorić D., Veresbaranij I., Jocić S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // Helia. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.
11. Демурин 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.
12. Демурин Я.Н., Борисенко О.М., Чебанова Ю.В. Материнский эффект в наследовании признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов первого поколения // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – Краснодар, 2016. – Вып. 1 (165). – С. 16–21.

13. Чебанова Ю.В., Борисенко О.М. Наследование признака среднеолеиновости линии ЛГ27 // Сб. материалов X всероссийской конференции с международным участием молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных и других технических культур». – Краснодар, 2019. – С. 209–215.

14. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Мн.: Вышэйш. школа. – 1978. – 448 с.

References

1. CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS. Adopted 1999. Revisions 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011. – 16 p.
2. Soldatov K.I., Voskoboynik L.K., Harchenko L.N. Vysokooleinovyi sort podsolnechnika Pervenec // Byul. NTI po maslichnym kul'turam. – 1976. – Vyp. 3. – S. 3–7.
3. Urie A.L. Inheritance of very high oleic acid content in sunflower // Proc. of 6th Sunflower Research Forum. – 1984. – P. 9–10.
4. Fick G.N. Inheritance of high oleic acid in sunflower // Proc. of 6th Sunflower Research. – 1984. – P. 9.
5. Miller J.F., Zimmerman D.C., Vick B.A. Genetic control of high oleic acid content in sunflower oil // Crop Science. – 1987. – Vol. 27. – P. 923–926.
6. Fernandez-Martinez J. M., Jimenez A., Dominguez J. Genetic analysis of the high oleic acid content in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Euphytica. – 1989. – Vol. 41. – P. 39–51.
7. Demurin Y., Škorić D. Unstable expression of Ol gene for high oleic acid content in sunflower seeds // Proc. of 14th International Sunflower Conference. – 12–20 June, Beijing, Shenyang, China. – 1996. – p. 145–150.
8. Demurin Y., Efimenko S., Borisenko O. A screening for suppressor genotypes on a high oleic mutation in sunflower // Proc. of 16th International Sunflower Conference. – August 29–September 2, Fargo, ND, USA. 2004. – Vol. 2. – Pp. 779–782.
9. Demurin Ya. N. Geneticheskij analiz i selekcionnoe ispol'zovanie priznakov sostava zhirnykh kislot i tokoferolov v semenah podsolnechnika: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. – SPb. – 1999. – 36 s.
10. Demurin Ya., Škorić D., Veresbaranij I., Jocić S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // Helia. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.
11. Demurin Ya.N., Borisenko O.M. Nasledovanie povyshennogo soderzhaniya oleinovoï kisloty v masle semyan podsolnechnika // Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskij byulleten' Vserossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur. – 2011. – Vyp. 2 (148–149). – S. 72–74.
12. Demurin Ya.N., Borisenko O.M., Chebanova Yu.V. Materinskij effekt v nasledovanii priznaka sredneoleinovosti masla v semenah podsolnechnika u gibridov pervogo pokoleniya // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byull. VNIIMK. – Krasnodar, 2016. – Vyp.1 (165) – S. 16–21.
13. Chebanova Yu.V., Borisenko O.M. Nasledovanie priznaka sredneoleinovosti linii LG27 / Sb. materialov X vserossijskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem molodykh uchenykh i specialistov «Aktual'nye voprosy biologii, selekcii, tekhnologii vozdeleyvaniya i pererabotki maslichnykh i drugih tekhnicheskikh kul'tur». Krasnodar, 2019 – S. 209–215.
14. Rokickij P.F. Vvedenie v statisticheskuyu genetiku. – Mн.: Vyshejsk. shkola. – 1978. – 448 s.

Получено: 20.08.2020 Принято: 05.10.2020
Received: 20.08.2020 Accepted: 05.10.2020