

ПРОЯВ ЕФЕКТУ ГЕТЕРОЗИСУ ВМІСТУ ТОКОФЕРОЛІВ У ГІБРИДІВ F₂ СОНЯШНИКУ

Харитоненко Н. С., Кириченко В. В., Поздняков В. В., Анциферова О. В., Святченко С.І.
Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН

В статті наведені результати по вмісту ізомерів токоферолів у лініях лабораторії селекції і генетики соняшнику. Аналіз їх вмісту показав високий рівень α -токоферолу, який коливався в межах від 99,22 % до 92,47 %. На ряду з цим були проведені дослідження по вмісту токоферолів в лініях-мутантах, які показали широкі межі варіювання. Були проведені розрахунки ступеня істинного гетерозису в гібридних комбінаціях F₂ створених за участю ліній селекції соняшнику ІРНААН та ліній мутантів зі зміненим спектром ізомерів токоферолів. Результати розрахунків показали найвищий ступінь ефекту гетерозису по δ -токоферолу, який складав 540 %.

Ключові слова: якість, соняшникова олія, антиоксидантна здатність, вітамінна здатність, ізомер, токоферол

Вступ. На сьогодні відомо чотири основні форми токоферолів α -, β -, γ - і δ в яких спостерігається негативна кореляція між вітамінною та антиоксидантною здатністю. Вміст ізомерів токоферолів у насінні соняшнику представлений в основному α -ізоформою на рівні більш ніж 90 %. З ідентифікацією генів, які контролюють спадкову мінливість по вмісту ізомерів токоферолів стало можливим створення форм соняшнику з різним їх комплексом [1].

Селекція соняшнику на якість характеризується багатьма факторами, які визначаються напрямом використання соняшникової олії. Задоволення потреби населення в здоровому харчуванні стало пріоритетним завданням у створенні нових форм, екологічно чистих та економічно вигідних. На сьогодні проблема створення високоякісної соняшникової продукції вирішується перш за все перерозподілом жирнокислотного складу. Та з відкриттям Я. Н. Демуріним мутацій Trp₁ і Trp₂, які контролюють вміст різних форм токоферолів стало можливим удосконалення напряму селекції соняшнику на якість олії [2].

Рецесивні алелі ідентифікованих генів мають властивість порушувати біосинтез α -токоферолу, що в свою чергу веде за собою появу нових ізоформ не характерних для звичайного соняшника [3]. Так, присутність у генотипі гену trp₁ спричиняє появу в середньому α -токоферолу на рівні 50 % та β -токоферолу на рівні 50 %. Дія гену trp₂ дає в середньому α -токоферолу 5 % та β -токоферолу 95 %. Присутність в одному генотипі обох мутацій в середньому дає 8 % α -токоферолу, 84 % γ -токоферолу і 8 % δ -токоферолу [4].

Мета досліджень. Метою наших досліджень було вивчення прояву ефекту гетерозису вмісту токоферолів у F₂.

Методика досліджень. Польові досліди закладалися в 2013-2014 рр. на полях наукової сівозміни Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (ІР). Матеріалом для досліджень слугували лінії носії різного вмісту ізомерів токоферолів, лінії лабораторії селекції та генетики соняшнику ІР, гібриди F₂.

Лабораторні дослідження здійснювали методом високоефективної рідинної хроматографії [5]. Аналіз проводився на хроматографічній системі Smartline фірми "Knauer" (Німеччина) з використанням колонки Eurospher II – 5 – Si 250 × 4 у варіанті прямофазного розділення. Рухомою фазою слугував 0,5 % розчин ізопропилового спирту у н-гексані. Швидкість потоку елюента склала 1,5 мл/хвил. Фотометрирування здійснювали УФ-детектором при 295 нм. Піки на хроматограмах ідентифікували за часом утримання, вста-

новленим для чистих препаратів α -, β -, γ - та δ - токоферолів фірми Merck. Вміст ізоформ токоферолів визначали за допомогою програми ClarityChrom (фірма Knauer).

Прояв гетерозису визначали за Matzingeretal [6] та S. Fonseca, F. Patterson [7]. Статистичний аналіз даних за вмістом токоферолів проводили за методикою Б. А. Доспехова [8].

Результати досліджень. Результати проведених досліджень ліній лабораторії селекції і генетики соняшнику ІР показали, що комплекс токоферолів даних зразків переважно представлений α -формою. Вміст α -токоферолу коливається від 99,22 % (X135 В) до 92,47 % (X279В) від загальної суми токоферолів. Вміст β -токоферолу знаходився в межах від 6,13 % (X736В) до 0,69 % (X135В). Максимальний відсоток γ -токоферолу становив 3,59 (X279В), мінімальне значення – 0,09 (X135В). Максимальний вміст δ -токоферолу знаходився в лінії X134В і становив 1,22 %, мінімальний вміст – 0,15 % X736В (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст токоферолів (α -, β -, γ -, δ -форми) в лініях лабораторії селекції і генетики соняшнику, 2013-2015 рр.

Назва зразка	Токоферолы, мг%								Σ токоферолів, мг %
	α -Т		β -Т		γ -Т		δ -Т		
	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	
X134В	32,74	94,59	1,45	4,19	-	-	0,42	1,22	34,61
X114В	12,15	95,01	0,39	3,08	0,24	1,9	-	-	12,79
X736В	13,68	92,94	8,81	6,13	1,13	0,79	0,21	0,15	14,84
X135В	20,46	99,22	1,45	0,69	0,18	0,09	-	-	20,09
X279В	11,8	92,47	0,5	3,94	0,46	3,59	-	-	12,76
X1334В	29,68	96,38	0,68	2,19	0,19	0,65	0,24	0,78	30,79
X220В	35,41	95,38	0,9	2,43	0,54	1,46	0,27	0,74	37,12
X сер.	22,27	95,14	2,03	3,24	0,46	1,41	0,29	0,72	23,28
V, %	113,5	2,4	149,2	53,6	79,3	87,8	32,7	60,8	111,5
НІР _{0,05}	67,0	2,0	2,7	1,6	0,3	1,1	0,1	0,4	68,5

Лінії отримані з ВНДІОК (м. Краснодар, Росія) характеризуються мінливістю за ознакою вмісту ізомерів токоферолів. Мутантна форма V_k-L-1 мала в своєму складі високий вміст δ -токоферолу (62,69 % від загальної суми), що дала змогу для її використання в селекційних схемах з метою отримання нових форм соняшнику. Лінія V_k-L-2 мала дещо нижчий вміст δ -токоферолу, але мала більший вміст γ -токоферолу – 30,39 % від загальної суми. Зразки V_k-L-4, V_k-L-7, V_k-L-8 вирізнялися підвищеним вмістом β -токоферолу (79,12 %, 75,77 %, 68,97 % від загальної суми відповідно) (табл. 2).

Таблиця 2. Вміст ізомерів токоферолів в мутантних лініях 2013-1015 рр.

Зразок	Токоферолы, мг %								Σ токоферолів, мг %
	α -Т		β -Т		γ -Т		δ -Т		
	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	мг %	% від Σ	
V _k -L-1	5,17	14,87	1,21	3,48	6,60	18,96	21,80	62,69	34,78
V _k -L-2	3,73	27,60	1,08	7,96	4,11	30,39	4,61	34,05	13,52
V _k -L-4	4,87	17,10	22,52	79,12	0,54	1,91	0,53	1,86	28,46
V _k -L-5	10,14	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,14
V _k -L-6	6,05	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,05
V _k -L-7	3,95	18,63	16,05	75,77	1,19	5,60	0,00	0,00	21,18
V _k -L-8	3,93	24,14	11,21	68,97	1,12	6,88	0,00	0,00	16,26
X сер.	5,40	43,19	7,44	33,62	1,94	9,11	3,85	14,09	18,63
V, %	39,54	85,82	117,1	108,8	121,9	119,2	199,6	167,4	52,02
НІР _{0,05}	0,24	0,88	0,35	0,77	0,17	0,41	0,27	0,94	0,69

Розрахунки ступеня істинного гетерозису за вмістом токоферолів у гібридів F₂ соняшнику показали, що найвищий ступінь мають гібридні комбінації - V_k-L-4 / X135B (H_{btδ} = 540 %); V_k-L-4 / X114B (H_{btδ} = 500 %); V_k-L-1 / X114B (H_{btα} = 41 %); V_k-L-1 / X135B (H_{btβ} = 40 %); V_k-L-1 / X135B (H_{btα} = 12 %).

Таблиця 3. Ступінь істинного гетерозису за вмістом токоферолів у гібридів F₂ соняшнику, %, 2014 р.

Гібридна комбінація	Ступінь гетерозису				
	α-Т	β-Т	γ-Т	δ-Т	Σ
V _k -L-1/X114B	41	-10	-69	-98	-34
V _k -L-4/X114B	-34	-88	-98	500	-56
V _k -L-1/X135B	12	40	-59	-94	-23
V _k -L-4/X135B	-30	-79	-70	540	-50

Висновки. В 2013-2015 рр. були проведені дослідження по визначенню вмісту токоферолів в лініях, які використовувались як батьківські компоненти для створення гібридних комбінацій. Результати аналізу показали високий вміст α-токоферолу (99,22 % - 92,47) в усіх зразках лабораторії селекції і генетики соняшнику. На відміну від них мутантні лінії вирізнялись різноманітністю вмісту різних ізомерів токоферолів. Їх спектр представлений чотирма формами (α, β, γ, δ), що дав змогу використовувати їх в селекції на якість соняшникової олії.

Визначення ступеня гетерозису показали високий прояв гетерозису α-токоферолу у комбінації V_k-L-1 / X114B (41 %) і низький прояв у гібридній комбінації V_k-L-4 / X114B (-34 %). Гібридна комбінація V_k-L-1 / X135B мала високий прояв гетерозису по β-токоферолу (40 %), в той час як V_k-L-1 / X135B мала низький прояв гетерозису (-79 %). Низький рівень прояву гетерозису по всім комбінаціям показав γ-токоферол. Найвищий ефект гетерозису було зафіксовано по δ-токоферолу (540 %). Такі результати даних свідчать про різний генетичний контроль при успадкуванні різних ізомерів токоферолів в насінні соняшнику.

Список використаних джерел

1. Перетягина Т. М. Генетическая идентификация мутаций состава токоферолов в семенах подсолнечника: автореферат дис. на соискание учен. степ. кандидата биол. наук: 06.01.05. / Перетягина Татьяна Михайловна. – Краснодар., 2007.
2. Демури Я. Н. Генетический анализ и селекционное использование признаков состава жирных кислот и токоферолов в семенах подсолнечника: дис. ... доктора. биол. наук : 03.00.15., 06.01.05. / Демури Яков Николаевич. – Краснодар., 1998 – 157 с.
3. Ефименко С. Г. Использование мутаций состава токоферолов и жирных кислот в селекции подсолнечника на качество масла: автореферат дис. на соискание учен. степ. кандидата биол. наук: 06.01.05. / Ефименко Сергей Григорьевич. – Краснодар., 2003.
4. Demurin Y. N. Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds. *Helia*. 1993. Vol. 16, № 18. P. 59–62.
5. ДСТУ EN 12822:2005. Визначення вмісту вітаміну Е методом рідинної хроматографії високороздільної здатності вимірювання α-, β-, γ- і δ- токоферолів: чинний від 2006-07-01. К.: Держспоживстандарт України, 2006. 13 с.
6. Matzinger, D. F. Diallel crossin *Nicotiana tabacum*. / Matzinger D. F., Mannand T. J., Cockerham C. C. // *Crop Science*, 1962. – 2:238 /286.
7. Fonseca S. Hybrid vigorin a seven parent diallel crossin common winter wheat (*Triticum aestivum* L.) / S. Fonseca, F. L. Patterson // *Crop Science*. – 1968. – Vol. 8, 1. – P. 85–88.
8. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – 5-е изд., доп. и Перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

References

1. Peretyagina TM Genetic identification of mutations in the tocopherol composition in sunflower seeds: Author's abstract of the thesis for the academic degree of Candidate of Biological Sciences: 06.01.05. / Peretyagina Tatyana Mikhaylovna. - Krasnodar., 2007.
2. Demurin YaN Genetic analysis and breeding use of fatty acid and tocopherol composition traits s in sunflower seeds: thesis for the academic degree of Doctor of Biological Sciences: 03.00.15., 06.01.05. / Demurin Yakov Nikolaevich. - Krasnodar., 1998 - 157 p.
3. Yefimenko SG Use of tocopherol and fatty acid composition mutations in sunflower breeding for oil quality: Author's abstract of the thesis for the academic degree of Candidate of Biological Sciences: 06.01.05. / Yefimenko Sergey Grigorievich. - Krasnodar., 2003.
4. Demurin Y. N. Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds. *Helia*. 1993. Vol. 16, No 18. P. 59–62.
5. State Standard of Ukraine EN 12822: 2005. Determination of vitamin E content by high-resolution liquid chromatography of α -, β -, γ - and δ -tocopherols: valid from 2006-07-01. К.: Derzhospozhyvstandart Ukrainy, 2006. 13 pp.
6. Matzinger, D. F. Diallel crossin *Nicotiana tabacum*. / Matzinger D. F., Mannand T. J., Cockerham C. C., *Crop Science*, 1962. - 2: 238/286.
7. Fonseca S. Hybrid vigorin a seven parent diallel crossing common winter wheat (*Triticum aestivum* L.) / S. Fonseca, F. L. Patterson // *Crop Science*. - 1968. - Vol. 8, 1. - P. 85-88.
8. Dospekhov VA Methods of field experimentation (with basics of statistical processing of research data). - 5th enlarged and revised edition. - М.: Agropromizdat, 1985. - 351 p.

ПРОЯВЛЕНИЕ ЭФЕКТА ГЕТЕРОЗИСА СОДЕРЖАНИЯ ТОКОФЕРОЛОВ У ГИБРИДОВ F₂ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Харитоненко Н. С., Кириченко В. В., Поздняков В. В., Анцыферова О. В., Святченко С. И.
Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН

Ключевые слова: качество, подсолнечное масло, антиоксидантная способность, витаминная способность, изомер, токоферол

Вступление. В последние годы селекция на качество подсолнечного масла перешла на новый этап. Если раньше для повышения качественных показателей использовали перераспределение жирнокислотного состава, то сейчас стало возможным создание новых форм с разными изомерами токоферолов. Токоферолы это уникальные антиоксиданты, которые тормозят процессы перекисного окисления. Поэтому ведение селекции на такой качественный признак как содержание разных изомеров токоферолов в семенах подсолнечника является актуальным.

Цель и задачи исследований. Цель исследований – изучение изомерного состава токоферолов линий лаборатории селекции и генетики подсолнечника, линий-мутантов, а также гибридных комбинаций F₂, определение степени истинного гетерозиса.

Методика исследований. Опыты проводили в условиях лаборатории генетики, биотехнологии и качества Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН. Использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения изомеров токоферолов в семенах подсолнечника.

Результаты исследований. При определении содержания изомеров токоферолов в семенах подсолнечника выявлено, что линии селекции ИР представлены в основном α -формой. Так линия X135В имеет максимальное его количество, что составляет 99,22 % от общей суммы. Максимальное содержание β -токоферола показала линия X736В (6,13 % от общей суммы). Образец X279В имеет наибольшее содержание γ -токоферола (3,59 %). Наибольшее количество δ -токоферола – X134В.

При изучении линий-мутантов на комплекс токоферолов выявлено значительную вариацию в их содержании. Линия Vk-L-1 имеет в своем составе повышенное содержание δ -токоферола (62,69 % от общей суммы). Мутант Vk-L-2 характеризуется присутствием в комплексе токоферолов повышенным содержанием γ -токоферола (30,39 % от общей суммы). Образцы Vk-L-4, Vk-L-7, Vk-L-8 выделены присутствием в большом количестве β -токоферола (79,12 %, 75,77 %, 68,97 % соответственно).

Определено существенное проявление эффекта гетерозиса в комбинациях Vk-L-4/X114В, Vk-L-1/X135В.

Выводы. Проведенные испытания показали возможность использования линий-мутантов в схемах скрещиваний для получения нового селекционного материала подсолнечника с измененным составом токоферолов. А результаты расчетов степени истинного гетерозиса позволяют сделать вывод о различном генетическом контроле данного признака.

HETEROSIS IN TOCOPHEROL CONTENT IN F₂ SUNFLOWER HYBRIDS

Kharitonenko NS, Kyrychenko VV, Pozdniakov VV, Antsyferova OV, Sviatchenko SI
Plant Production Institute named after. VYa Yuriev of NAAs

Key words: quality, sunflower oil, antioxidant capacity, vitamin capacity, isomer, tocopherol

Introduction. In recent years, the breeding for sunflower oil quality has broken new ground. If at earlier stages redistribution in fatty acid composition was used to improve quality indices, now it became possible to create new forms with different tocopherol isomers. Tocopherols are unique antioxidants that inhibit peroxidation. Therefore, breeding for such a qualitative trait as contents of different tocopherol isomers in sunflower seeds is relevant.

Objectives. The study objective was to study the tocopherol isomer composition in lines bred in the Laboratory of Sunflower Breeding and Genetics, mutant lines and to evaluate the degree of true heterosis in F₂ hybrids.

Methods. The experiments were carried out in the Laboratory of Genetics, Biotechnology and Quality of the Plant Production Institute named after VY. Yuriev of NAAS. High-performance liquid chromatography was used to determine tocopherol isomers in sunflower seeds.

Results. Determination of the tocopherol isomer contents in sunflower seeds revealed that lines bred at the PPI contained predominantly α -isomer. Its content was maximum in line Kh135V: 99.22% of the total amount. The maximum content of β -tocopherol was found in line Kh736V (6.13% of the total amount). Accession Kh279V had the highest content of γ -tocopherol (3.59%). The greatest amount of δ -tocopherol was recorded for Kh134V.

The study of the tocopherol composition in mutant lines discovered significant variations in their contents. Line Vk-L-1 had an increased content of δ -tocopherol (62.69% of the total amount). Mutant Vk-L-2 was characterized by an increased content of γ -tocopherol (30.39% of the total amount). Accessions Vk-L-4, Vk-L-7 and Vk-L-8 were noticeable for a large amount of β -tocopherol (79.12%, 75.77%, 68.97%, respectively).

A significant heterosis was observed in combinations Vk-L-4/Kh114V, Vk-L-1/Kh135V.

Conclusions. Our experiments proved a possibility of using mutant lines in crossing designs to generate new breeding material of sunflower with a modified composition of tocopherols. The results of calculation of the true heterosis degree make it possible to conclude that there are differences in the genetic control of this trait.