

Научная статья

УДК 633.853.494:631.52

DOI: 10.25230/2412-608X-2023-2-194-28-33

## Наследование признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян F<sub>2</sub> и поколения BC<sub>1</sub> рапса озимого (*Brassica napus* L.)

Алёна Александровна Голова

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

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

Тел.: (861) 274-55-94

lelyk96@mail.ru

**Аннотация.** Целью работы являлось изучение закономерностей наследования признака высокоолеиновости в F<sub>2</sub> и поколении BC<sub>1</sub> рапса озимого для получения новых знаний о генетических механизмах высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян и научно обоснованных подходов в создании селекционного материала с высоким содержанием олеиновой кислоты. Исследования были проведены в 2021–2022 гг. в полевых условиях. Материалом послужили реципрокные гибриды F<sub>1</sub> от скрещиваний высокоолеиновой линии ВН-1848 (79,3 %) с двумя линиями из сортов Сармат и Селегор селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК с традиционным содержанием олеиновой кислоты в масле семян – 62,1 и 60,5 % соответственно. Для получения семян BC<sub>1</sub> использовались гибриды F<sub>1</sub>. В 2022 г. получены F<sub>2</sub> и поколение BC<sub>1</sub>. В гибридах F<sub>2</sub> наблюдалось расщепление по двум фенотипическим классам в соотношении 15 : 1. К первому были отнесены линии, в масле семян которых содержание олеиновой кислоты было менее 79 %, ко второму – линии, имеющие высокие показатели этого признака на уровне или выше родительского высокоолеинового компонента (18 : 1 > 79 %). Это предполагает контроль признака двумя парами неаллельных генов с аддитивным эффектом. В результате возвратных скрещиваний с использованием в качестве материнского компонента высокоолеиновой линии ВН-1848 было получено 55 генотипов с низким содержанием олеиновой кислоты (18 : 1 < 79 %) и 11 генотипов с высокими показателями этого признака (18 : 1 > 79 %). Это соответствовало расщеплению в соотношении 3 : 1. Все значения  $\chi^2$  оказались меньше 3,8,  $p > 0,05$ . Результаты исследований подтверждают наше предположение о контроле содержания олеиновой кислоты в масле семян двумя парами не-

аллельных генов, проявление этого признака у растений наблюдается только тогда, когда все аллели находятся в гомозиготном рецессивном состоянии.

**Ключевые слова:** рапс озимый, олеиновая кислота, наследование, жирно-кислотный состав, реципрокные скрещивания, возвратные скрещивания

**Для цитирования:** Голова А.А. Наследование признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян F<sub>2</sub> и поколения BC<sub>1</sub> рапса озимого (*Brassica napus* L.) // Масличные культуры. 2023. Вып. 2 (194). С. 28–33.

UDC 633.853.494:631.52

## Inheritance of the trait of high oleic acid content in F<sub>2</sub> and generation BC<sub>1</sub> of winter rapeseed (*Brassica napus* L.)

Golova A.A., junior researcher

V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

17 Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

lelyk96@mail.ru

**Abstract.** The aim of the work was to study the patterns of inheritance of the trait of high oleic content in the F<sub>2</sub> and generation BC<sub>1</sub> of winter rapeseed in order to obtain new knowledge about the genetic mechanisms of the high oleic acid contents in seed oil and scientifically based approaches to the development of the breeding germplasm with a high content of oleic acid. The studies were carried out in 2021–2022 in the field. The material was reciprocal F<sub>1</sub> hybrids from crossings of the high-oleic line VN-1848 (79.3%) and two lines from the cultivars Sarmat and Selegor of VNIIMK breeding with the traditional content of oleic acid in seed oil – 62.1 and 60.5%, respectively. Hybrids F<sub>1</sub> were used to produce BC<sub>1</sub> seeds. F<sub>2</sub> and BC<sub>1</sub> generations were obtained in 2022. In F<sub>2</sub> hybrids, splitting into two phenotypic classes was observed in a ratio of 15 : 1. The first one included lines with oleic acid content in seed oil less than 79%, the second one – lines with high rates of this trait at the level or higher than the parental high-oleic component (18 : 1 > 79%). This proposes the control of a trait by two pairs of non-allelic genes with an additive effect. As a result of backcrosses using the high-oleic lines VN-1848 as the maternal component, 55 genotypes with a low content of oleic acid (18 : 1 < 79%) and 11 genotypes with high levels of this trait (18 : 1 > 79%) were obtained. This corresponded to a splitting ratio of 3 : 1. All  $\chi^2$  values turned out to be less than 3.8,  $p > 0.05$ . The results of the studies confirm our assumption that the oleic acid content in seed oil is controlled by two pairs of non-allelic genes; the manifestation of this trait in plants is observed only when all alleles are in a homozygous recessive state.

**Key words:** winter rapeseed, oleic acid, inheritance, fatty acid composition, reciprocal crosses, backcrosses

**Введение.** Рапс масличный (*Brassica napus* L.) является одной из важнейших масличных культур во всем мире как источник высококачественного пищевого растительного масла для потребления человеком. Качество рапсового масла в основном определяется его жирно-кислотным составом, в частности соотношением трёх основных ненасыщенных жирных кислот: олеиновой (C18 : 1), линолевой (C18 : 2) и линоленовой (C18 : 3) [1]. Одним из важнейших направлений в селекции рапса является повышение содержания олеиновой кислоты в масле семян [2]. Такой тип масла сохраняет преимущества низкого содержания насыщенных жирных кислот; его можно использовать для многократного обжаривания продуктов питания при высокой температуре без потери вкусовых качеств и вреда для здоровья [3]. В результате испытаний на устойчивость высокоолеинового рапсового масла к окислению было установлено, что снижение доли полиненасыщенных кислот до уровня 9–10 %, значительное увеличение доли олеиновой кислоты в масле семян, а также более высокое содержание природных антиоксидантов – токоферолов положительно влияет на устойчивость высокоолеинового рапсового масла к процессам окисления более чем в 5 раз в сравнении с традиционным рапсовым маслом и более чем в 1,5 раза по сравнению с оливковым маслом [4].

Для селекции рапса на улучшение качественных характеристик масла большое значение имеет понимание механизма биосинтеза входящих в его состав жирных кислот [5]. Согласно исследованиям в области биохимии липидов, основным геном, который вызывает превращение стеариновой кислоты в олеиновую, является FAD1 [6]. Решающую роль в преобразовании олеиновой кислоты в

линолевою играет FAD2 (Fatty acid desaturase 2) – десатураза жирных кислот, которая находится в эндоплазматическом ретикулуме и катализирует процесс десатурации путём образования второй двойной связи в дельта-12-позиции. В исследованиях китайских учёных было подтверждено, что существует четыре аллеля гена FAD2, которые появились в рапсе от синтетической гибридизации его диплоидных предшественников – сурепицы (*Brassica rapa* L.) и капусты огородной (*Brassica oleracea* L.), каждый из которых имеет по две аллели FAD2 [7]. В исследованиях о генетическом контроле наследования признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса были рассчитаны генетические эффекты аддитивности, доминирования и эпистаза в популяциях F<sub>2</sub> двух мутантных аллелей BnFAD2. Среднее содержание олеиновой кислоты у линий с генотипом aabb или AABb в популяции F<sub>2</sub> составило примерно 85 % и 63 % соответственно, как и у родительских линий. Увеличение содержания олеиновой кислоты сопровождалось снижением содержания линолевой и линоленовой кислот, тогда как содержание масла у линий не претерпело существенных изменений. Аналогичная ситуация наблюдалась в следующих поколениях F<sub>2</sub> и BC<sub>1</sub>. Наследование содержания олеиновой кислоты в основном контролировалось аддитивным эффектом [8].

В последние несколько десятилетий как мутагенез, так и генетическая трансформация определённых фрагментов ДНК широко использовались для создания новых сортов, поскольку эти стратегии значительно облегчают процессы селекции [9]. Однако такие методы имеют недостатки. Например, мутагенез может вводить случайные мутации, которые возможно удалить только с помощью трудоёмких и требующих долгого времени стратегий селекции. С генетической трансформацией связаны возможные проблемы со здоровьем людей и окружающей средой [10]. Поэтому актуальным

остаётся использование методов традиционной селекции.

В результате ранее проведённых исследований нами было установлено, что наследование признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян  $F_1$  рапса озимого при скрещивании высокоолеиновых линий с продуктивными линиями из сортов Сармат и Селегор с традиционным жирно-кислотным составом наблюдается промежуточный тип наследования [11]. Это согласуется с аналогичными результатами, полученными китайскими учёными, которые установили, что показатели олеиновой кислоты в поколении  $F_1$  являются средними между родителями с высоким (80,5 %) и нормальным (62,7 %) содержанием олеиновой кислоты в масле семян. Причём при использовании высокоолеиновой линии в качестве материнского компонента, а в качестве отцовского – линии с традиционным жирно-кислотным составом, содержание  $C18 : 1$  было 73,4 %. В скрещиваниях в обратном направлении это значение равнялось 67,8 %, что говорит о присутствии материнского эффекта [12].

Целью данной работы является продолжение изучения закономерностей наследования признака высокоолеиновости в  $F_2$  и поколении  $BC_1$  рапса озимого для получения новых знаний о генетических механизмах высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян и научно обоснованных подходов в создании селекционного материала с высоким содержанием олеиновой кислоты.

**Материалы и методы.** Исследования были проведены в 2021–2022 гг. Материалом послужили реципрокные гибриды  $F_1$  от скрещиваний высокоолеиновой линии ВН-1848 (79,3 %) с двумя линиями из сортов Сармат и Селегор селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК с традиционным содержанием олеиновой кислоты в масле семян – 62,1 и 60,5 % соответственно. Для получения семян  $BC_1$  использовались гибриды  $F_1$ . С этой целью были проведены возвратные скрещивания, где в каче-

стве рекуррентов выступали как высокопродуктивные линии из сортов Сармат и Селегор, так и высокоолеиновая линия ВН-1848. В 2022 г. получены  $F_2$  и поколение  $BC_1$  в полевых условиях. Весь материал проходил оценку на содержание олеиновой кислоты в масле семян с помощью ИК-спектрометрии на приборе MATRIX-I Bruker Optics в стандартной комплектации [13]. Для систематической оценки соответствия фактического расщепления теоретически ожидаемому применялся метод критерия значимости хи-квадрат ( $\chi^2$ ) [14].

**Результаты и обсуждение.** В реципрокных скрещиваниях линии ВН-1848 с линиями из сортов Сармат и Селегор содержание олеиновой кислоты в масле семян имело среднее значение между родительскими формами – 69,4 % в скрещиваниях с линией из сорта Селегор и 71,0 % в скрещиваниях с линией из сорта Сармат. В связи с тем, что в  $F_1$  не наблюдался сильный материнский эффект, для последующего изучения признака высокого содержания олеиновой кислоты в  $F_2$  и поколении  $BC_1$  реципрокные скрещивания были объединены (табл. 1). Анализ показал, что содержание олеиновой кислоты в масле семян гибридов  $F_2$  варьировало от 65,0 до 80,6 %. Наблюдалось расщепление по двум фенотипическим классам в соотношении 15 : 1. К первому были отнесены линии, в масле семян которых содержание олеиновой кислоты было менее 79 %, ко второму – линии, имеющие высокие показатели этого признака – на уровне или выше родительского высокоолеинового компонента (18 : 1 > 79 %). Проверка полученных соотношений по критерию хи-квадрат ( $\chi^2$ ) свидетельствовала о случайном различии между фактическими и теоретически ожидаемыми результатами, поскольку значение  $\chi^2$  оказалось меньше 3,8,  $p > 0,05$  (табл. 1). Согласно полученным данным можно предположить, что содержание олеиновой кислоты в масле семян контролируется двумя парами неаллельных генов, которые вызывают аддитивный эффект.

Таблица 1

**Результаты гибридологического анализа признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян  $F_2$  рапса озимого**

Комбинация скрещивания	18 : 1 < 79 %, шт.		18 : 1 > 79 %, шт.		Соотношение	$\chi^2$	Вероятность
	фактическое	теоретическое	фактическое	теоретическое			
(ВН-1848 × Селегор), (Селегор × ВН-1848)	67	68,4	6	4,6	15 : 1	0,7	0,3–0,5
(ВН-1848 × Сармат), (Сармат × ВН-1848)	62	60,9	3	4,1	15 : 1	0,5	0,3–0,5

Чтобы удостовериться в изложенной гипотезе, наследование олеиновой кислоты было изучено и в поколении  $BC_1$ . В первой части опыта проводились возвратные скрещивания (беккроссы), где линии из сортов Сармат и Селегор с традиционным жирно-кислотным составом являлись материнскими формами, а реципрокные гибриды  $F_1$  – отцовскими. В результате расщепления в поколении  $BC_1$  на биотипы с разными показателями олеиновой кислоты высокоолеиновых форм найдено не было. Показатели варьировались от 62,0 до 76,7 %. Это говорит о рецессивности признака высокого содержания олеиновой кислоты, из-за чего он и не проявился в фенотипе. Соотношение по такой схеме скрещивания:  $AABV \times AaVb = 4 : 0$ .

Во второй части опыта возвратные скрещивания проводились с использованием в качестве материнского компонента растения высокоолеиновой линии ВН-1848, отцовским компонентом являлись реципрокные гибриды  $F_1$ . Согласно нашим предположениям о рецессивном состоянии генов, отвечающих за признак высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян, в таком типе возвратного скрещивания ( $aabb \times AaVb$ ) соотношение в фенотипе должно равняться 3 : 1. В результате в поколении  $BC_1$  при таком

направлении скрещивания содержание олеиновой кислоты в масле семян находилось в пределах от 67,0 до 81,9 %. Было получено 55 генотипов с низким содержанием олеиновой кислоты (18 : 1 < 79 %) и 11 генотипов с высокими показателями этого признака (18 : 1 > 79 %). Это соответствует расщеплению в соотношении 3 : 1. Значения  $\chi^2$  оказались меньше табличных, поэтому различия между фактически полученными величинами и теоретически ожидаемыми можно считать случайными (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты гибридологического анализа признака высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян  $BC_1$**

Комбинация скрещивания	18 : 1 < 79 %, шт.		18 : 1 > 79 %, шт.		Соотношение	$\chi^2$	Вероятность
	фактическое	теоретическое	фактическое	теоретическое			
ВН-1848 × (ВН-1848 × Селегор), (Селегор × ВН-1848)	27	24,0	5	8,0	3 : 1	1,5	0,2–0,3
ВН-1848 × (ВН-1848 × Сармат), (Сармат × ВН-1848)	28	25,5	6	8,5	3 : 1	1,0	0,3–0,5

Результаты исследований подтверждают наше предположение о контроле содержания олеиновой кислоты в масле семян двумя парами неаллельных генов. Проявление этого признака у растений наблюдается только тогда, когда все аллели находятся в гомозиготном рецессивном состоянии.

**Заключение.** Изучение наследования высокого содержания олеиновой кислоты в масле семян рапса озимого селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК показало, что этот признак контролируется взаимодействием двух неаллельных генов. Проявление этого признака в гибридах  $F_2$  и поколении  $BC_1$  наблюдается только то-

гда, когда все аллели находятся в гомозиготном рецессивном состоянии.

#### Список литературы

1. Gillingham L.G., Harris-Janz S., Jones P.J. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors // *Lipids*. 2011 Vol. 46 (3). – P. 209–28. DOI: 10.1007/s11745-010-3524-y.

2. Zhao Q., Wu J., Cai G., Yang Q., Shahid M., Fan C., Zhang C. and Zhou Y. A novel quantitative trait locus on chromosome A9 controlling oleic acid content in *Brassica napus* // *Plant Biotechnol.* – 2019. – Is. 17. – P. 2313–2324.

3. Kaur H., Wang L., Stawniak N., Sloan R., van Erp H., Eastmond P., Bancroft I. The impact of reducing fatty acid desaturation on the composition and thermal stability of rapeseed oil. *Plant Biotechnol J.* – 2020. – Vol. 18 (4). – P. 983–991. DOI: 10.1111/pbi.13263.

4. Ефименко С.Г., Ефименко С.К., Быкова С.Ф., Давиденко Е.К. Рапсовое высокоолеиновое масло как альтернатива оливковому маслу // *Масложировая промышленность*. – 2016. – № 1. – С. 16–18.

5. Tang S., Liu D.-X., Lu S., Yu L., Li Y., Lin S., Li L., Du Z., Liu X., Li X., Ma W., Yang Q.-Y., Guo L. Development and screening of EMS mutants with altered seed oil content or fatty acid composition in *Brassica napus* // *Plant J.* – 2020. – 104 (5). – P. 1410–1422. DOI: 10.1111/tpj.15003.

6. Guan C., Liu C., Chen S., Pen Qi, Li X., Guan M. High oleic acid content breeding materials of *Brassica napus* L. produced by <sup>60</sup>Co radiation // *Abstracts of the 12th Inter. Rapeseed Cong., China, Wuhan, 26–30 March, 2007.* – P. 35.

7. Lee K.-R., Sohn S., Jung J., Kim S., Roh K., Kim J.-B., Suh M., Kim H. Functional analysis and tissue-differential expression of four FAD2 genes in amphidiploid *Brassica napus* derived from *Brassica rapa* and *Brassica oleracea* // *Gene*. – 2013. – V. 531. – Is. 2. – P. 253–262. DOI: 10.1016/j.gene.2013.08.095.

8. Long W., Hu M., Gao J., Chen S., Zhang J., Cheng L., Pu H. Identification and functional analysis of two new mutant BnFAD2 alleles that confer elevated oleic acid content in rapeseed // *Front Genet.* – 2018. Vol. 9. – P. 399. DOI: 10.3389/fgene.2018.00399.

9. Schouten H.J., Jacobsen E. Are mutations in genetically modified plants dangerous? // *J. Biomed Biotechnol.* – 2007. – Vol. 7. – Art. No 82612. DOI: 10.1155/2007/82612.

10. Arntzen C.J., Coghlan A., Johnson B., Peacock J., Rodemeyer M. GM crops: science, politics and communication // *Nat. Rev. Genet.* – 2003. – 4. – P. 839–843. DOI: 10.1038/nrg1185.

11. Golova A.A., Gorlova L.A. Study on the inheritance of oleic acid content in reciprocal F<sub>1</sub> hybrids of winter rapeseed at V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops // *IOP Conf. Ser.: Earth Environ.* – 2022. – Sci. 979. – Art. No 012005. DOI 10.1088/1755-1315/979/1/012005.

12. Guan M., Li X. Study on inheritance law of oleic acid character on *Brassica napus* // *Life Sci. Res.* – 2009. – Vol. 13. – No. 2. – P. 152–7.

13. Ефименко С.Г., Ефименко С.К., Кучеренко Л.А., Нагалеvская Я.А. Экспресс-оценка содержания основных жирных кислот в масле семян рапса с помощью ИК-спектromетрии // *Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК.* – 2015. – Вып. 4 (164). – С. 35–40.

14. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

#### References

1. Gillingham L.G., Harris-Janz S., Jones P.J. Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors // *Lipids*. – 2011. – Vol. 46 (3). – P. 209–28. DOI: 10.1007/s11745-010-3524-y.

2. Zhao Q., Wu J., Cai G., Yang Q., Shahid M., Fan C., Zhang C. and Zhou Y. A novel quantitative trait locus on chromosome

A9 controlling oleic acid content in Brassica napus // Plant Biotechnol. – 2019. – Is. 17. – P. 2313–2324.

3. Kaur H., Wang L., Stawniak N., Sloan R., van Erp H., Eastmond P., Bancroft I. The impact of reducing fatty acid desaturation on the composition and thermal stability of rapeseed oil. Plant Biotechnol. J. – 2020. – Vol. 18 (4). – P. 983–991. DOI: 10.1111/pbi.13263.

4. Efimenko S.G., Efimenko S.K., Bykova S.F., Davidenko E.K. Rapsovoe vysokooleinovoe maslo kak al'ternativa olivkovomu maslu // Maslozhirovaya promyshlennost'. – 2016. – № 1. – S. 16–18.

5. Tang S., Liu D.-X., Lu S., Yu L., Li Y., Lin S., Li L., Du Z., Liu X., Li X., Ma W., Yang Q.-Y., Guo L. Development and screening of EMS mutants with altered seed oil content or fatty acid composition in Brassica napus // Plant J. – 2020. – 104 (5). – P. 1410–1422. DOI: 10.1111/tpj.15003.

6. Guan C., Liu C., Chen S., Pen Qi, Li X., Guan M. High oleic acid content breeding materials of Brassica napus L. produced by <sup>60</sup>Co radiation // Abstracts of the 12th Inter. Rapeseed Cong., China, Wuhan, 26–30 March, 2007. – P. 35.

7. Lee K.-R., Sohn S., Jung J., Kim S., Roh K., Kim J.-B., Suh M., Kim H. Functional analysis and tissue-differential expression of four FAD2 genes in amphidiploid Brassica napus derived from Brassica rapa and Brassica oleracea // Gene. – 2013. – V. 531. – Is. 2. – P. 253–262. DOI: 10.1016/j.gene.2013.08.095.

8. Long W., Hu M., Gao J., Chen S., Zhang J., Cheng L., Pu H. Identification and functional analysis of two new mutant BnFAD2 alleles that confer elevated oleic acid content in rapeseed // Front Genet. – 2018. – Vol. 9. – P. 399. DOI: 10.3389/fgene.2018.00399.

9. Schouten H.J., Jacobsen E. Are mutations in genetically modified plants dangerous? // J. Biomed Biotechnol. – 2007. – Vol. 7. – Art. No 82612. DOI: 10.1155/2007/82612.

10. Arntzen C.J., Coghlan A., Johnson B., Peacock J., Rodemeyer M. GM crops: science, politics and communication // Nat. Rev. Genet. – 2003. – 4. – P. 839–843. DOI: 10.1038/nrg1185.

11. Golova A.A., Gorlova L.A. Study on the inheritance of oleic acid content in reciprocal F1 hybrids of winter rapeseed at V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. – 2022. – Sci. 979. – Art. No 012005. DOI 10.1088/1755-1315/979/1/012005.

12. Guan M., Li X. Study on inheritance law of oleic acid character on Brassica napus // Life Sci. Res. – 2009. – Vol. 13. – No. 2. – P. 152–7.

13. Efimenko S.G., Efimenko S.K., Kucherenko L.A., Nagalevskaya Ya.A. Ekspress-otsenka sodержaniya osnovnykh zhirnykh kislot v masle semyan rapsa s pomoshch'yu IK-spektrometrii // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2015. – Vyp. 4 (164). – P. 35–40.

14. Dospikhov B.A. Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy). 5-e izd. – M.: Agropromizdat, 1985. – 351 p.

Сведения об авторе

**А.А. Голова**, млад. науч. сотр.

*Получено/Received*

05.04.2023

*Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed*

10.04.2023

*Получено после доработки/Manuscript revised*

12.04.2023

*Принято/Accepted*

26.04.2023

*Manuscript on-line*

30.06.2023