

Биохимическая оценка андроклинных линий ярового рапса (*Brassica napus* L.)

А. А. Муравлев*, Е. В. Чеснокова, И. С. Шиловских

Всероссийский научно-исследовательский институт рапса
Россия, 398037 г. Липецк, Боевой проезд, 26.

*Email: anatoly.muravleff@yandex.ru

Современный уровень развития перерабатывающей промышленности предъявляет высокие требования к сортам ярового рапса. Назрела необходимость создания сортов с улучшенным составом жирных кислот, для этого требуются новые селекционные исходные формы. Для их создания используют мутагенез, генную трансформацию, межвидовую гибридизацию. Андроклинные линии ярового рапса, полученные с использованием культуры пыльников *in vitro*. Пыльники изолировали из растений донорного сорта Likolli, выращенных в регулируемых условиях теплицы. Биохимический анализ семян выявил различия по содержанию жирных кислот между линиями и донорным сортом. Выделены андроклинные линии (АЛ22 и АЛ28), содержащие олеиновую кислоту (С18:1) более 68.0%, в донорном сорте – 64.97%. По другим жирным кислотам так же были выявлены изменения. Интервал содержания пальмитиновой (С16:0) кислоты находился от 2.48 (АЛ13) до 4.95% (АЛ20). Максимальное содержание линолевой (С18:2) кислоты 23.54% получили у линии АЛ19, линия (АЛ12) содержала минимальное количество (6.41%) линоленовой (С18:3) кислоты.

Ключевые слова: рапс, пыльники, андроклинные линии, жирнокислотный состав, олеиновая кислота, линолевая кислота, линоленовая кислота.

Рапс (*Brassica napus* L.) является одним из важнейших источников растительного масла в мире. В зависимости от биохимического состава рапсового масла его используют как на технические, так и на пищевые цели.

Современные сорта рапса содержат низкий уровень эруковой кислоты (С22:1) и глюкозинолатов, приблизительно 61% олеиновой кислоты (С18:1), 20% линолевой кислоты (С18:2), 11% линоленовой кислоты (С18:3) и 1.5% эйкозеновой кислоты (С20:1).

Линолевая кислота входит в клеточный комплекс мембран и участвует в биосинтезе эйкозиноидов – медиаторов реакций метаболизма. Линоленовая кислота играет роль в кислородном обмене нервных клеток, а олеиновая снижает уровень холестерина в плазме крови и увеличивает срок хранения масла [1].

Увеличение содержания линоленовой кислоты в масле семян рапса отрицательно сказывается на его окислительной стабильности, но повышает полезные для организма свойства. Оптимальным соотношением кислот (линолевой и линоленовой) для использования в пищу принято считать от 3:1 до 5:1.

Снижение содержания линоленовой кислоты до 3% и менее – одна из задач в качественном улучшении рапсового масла. Robbelen [2] и Roy [3] сообщили о получении мутантных образцов ярового рапса с измененным жирнокислотным составом. Получен первый в мире сорт Stellar с низким содержанием линоленовой кислоты [4]

Генетический анализ показал, что содержание линоленовой кислоты определяется сложными взаимодействиями двух или трех локусов материнского генотипа и влиянием факторов окружающей среды [5].

В настоящее время создаются сорта с высоким содержанием не только уже традиционных кислот (к примеру, олеиновой свыше 70%), но и каприновой, лауриновой и меристиновой [6–8].

Имеются данные по использованию ДН линий и трансформантов в получении образцов с ценным жирнокислотным составом масла [9].

Таким образом, перспективным направлением селекции рапса является создание сортов, сбалансированных по содержанию жирных кислот в масле.

В связи с этим, большую актуальность имеют разработки новых подходов и методов в создании исходного материала для селекции сортов и гибридов ярового рапса, адаптированных к условиям России.

Цель исследований – провести оценку созданных нами андроклиных линий ярового рапса по качественным и количественным характеристикам масла в семенах.

Материалы и методика

Объектом исследований служили маслосемена ярового рапса – 34 андроклиные линии (АЛ) сорта Likolli, полученные с использованием культуры пыльников *in vitro* [10]. Растения-регенеранты в период цветения изолировали на самоопыление.

Донорный сорт относится к типу «00» с низким содержанием эруковой кислоты и глюкозинолатов. Жирнокислотный состав АЛ сравнивали с донорным сортом. Биохимический состав масла определяли по методике Демьянчука Г. Т. и др. [11] методом газожидкостной хроматографии по ГОСТ 30089–93. Математическую обработку данных проводили по Доспехову Б. А. [12].

Результаты исследований

В таблице представлены результаты анализа жирнокислотного состава донорного сорта и андроклиновых линий из этого сорта.

Анализ жирнокислотного состава семян андроклиновых линий показал изменения содержания насыщенной пальмитиновой кислоты, которые составили от 2.48 (АЛ13) до 4.95% (АЛ20). 28 андроклиновых линий (или 80.0%) имели содержание этой кислоты выше, чем у донорного сорта, а шесть (17.1%) линий имели меньшее содержание данного компонента в сравнении с донорным сортом. У образца АЛ13 содержание пальмитиновой кислоты уменьшилось на 38.0% в сравнении с исходным сортом. В наших исследованиях содержание пальмитиновой кислоты у АЛ характеризовалось средней изменчивостью ($V = 10.0\%$).

Содержание олеиновой кислоты в семенах донорного сорта составляло 64.97%. У андроклиновых линий эта величина колебалась от 60.99 (АЛ11) до 68.18% (АЛ28). 23 линии содержали олеиновую кислоту ниже донорного сорта (67.65%), одна линия (2.86%) на уровне стандарта и 10 линий или 28.57% содержали олеиновую кислоту выше донорного сорта. Коэффициент вариации олеиновой кислоты у изучаемых линий составил 2.53% – изменчивость данной кислоты в семенах АЛ низкая. У линии АЛ28 содержание олеиновой кислоты возросло на 4.9%.

Содержание линолевой кислоты в семенах АЛ колебалось от 18.64% (АЛ22) до 23.54% (АЛ19). 24 линии (68.57%) содержали низкое количество линолевой кислоты, 10 линий (29.41%) имели повышенное содержание линолевой кислоты по сравнению с донорным сортом. У АЛ19 содержание линолевой кислоты возросло на 1.24%. Изменчивость данного признака у линий средняя и составила 7.0%.

Образцы АЛ6, АЛ12, АЛ28, АЛ29 и АЛ30 имеют суммарное значение олеиновой и линолевой кислот более 87.32%.

Содержание линоленовой кислоты в семенах андроклиновых линий варьировало от 6.41 (АЛ12) до 9.81% (АЛ23). 28 линий или 82.35% содержали линоленовую кислоту выше донорного сорта и 6 линий (17.14%) имели низкое ее содержание. У андроклиновой линии №12 содержание линоленовой кислоты снизилось на 13.3%. Наличие линоленовой кислоты в семенах характеризуется средней изменчивостью, коэффициент вариации составил 9.79%.

Наличие в семенах эйкозеновой кислоты варьировало от 0.91 (АЛ33) до 2.67% (АЛ25). Четырнадцать андроклиновых линий (40.0%), формировали эйкозеновую кислоту меньше донорного сорта и 20 линий или 57.1% формировали повышенное содержание эйкозеновой кислоты. Одна линия (2.9%) содержала эйкозеновую кислоту на уровне донорного сорта. У андроклиновой линии АЛ12 содержание эйкозеновой кислоты сни-

Таблица. Состав основных жирных кислот в масле сорта Likolli и полученных из него андроклиновых линий

| Образец | Жирные кислоты, % | | | | |
|---------|-------------------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| | пальмитиновая | олеиновая | линолевая | линоленовая | эйкозеновая |
| Likolli | 4.00 | 64.97 | 22.30 | 7.39 | 1.34 |
| АЛ1 | 4.40 | 61.47 | 23.47 | 9.71 | 0.95 |
| АЛ2 | 4.64 | 63.47 | 22.58 | 8.19 | 1.12 |
| АЛ3 | 4.42 | 63.62 | 22.39 | 8.44 | 1.13 |
| АЛ4 | 4.13 | 64.47 | 22.03 | 8.27 | 1.07 |
| АЛ5 | 4.19 | 64.50 | 21.10 | 8.43 | 1.66 |
| АЛ6 | 4.21 | 64.17 | 23.35 | 6.90 | 1.37 |
| АЛ7 | 4.12 | 65.53 | 20.70 | 8.57 | 1.11 |
| АЛ8 | 4.52 | 64.43 | 21.30 | 8.52 | 1.23 |
| АЛ9 | 3.73 | 66.33 | 20.07 | 8.08 | 1.62 |
| АЛ10 | 4.29 | 63.97 | 21.55 | 8.35 | 1.61 |
| АЛ11 | 4.45 | 60.99 | 23.45 | 8.74 | 1.95 |
| АЛ12 | 4.16 | 65.27 | 23.02 | 6.41 | 1.14 |
| АЛ13 | 2.48 | 65.88 | 21.52 | 8.35 | 1.63 |
| АЛ14 | 4.00 | 64.72 | 22.08 | 7.63 | 1.5 |
| АЛ15 | 4.18 | 65.04 | 22.23 | 7.17 | 1.38 |
| АЛ16 | 4.37 | 63.01 | 22.85 | 8.39 | 1.38 |
| АЛ17 | 4.47 | 63.62 | 21.94 | 8.65 | 1.32 |
| АЛ18 | 3.98 | 64.26 | 20.99 | 8.89 | 1.7 |
| АЛ19 | 4.77 | 61.38 | 23.54 | 8.52 | 1.69 |
| АЛ20 | 4.95 | 63.63 | 20.57 | 8.62 | 1.99 |
| АЛ21 | 4.59 | 60.19 | 21.72 | 8.66 | 1.72 |
| АЛ22 | 4.43 | 68.01 | 18.64 | 7.52 | 1.40 |
| АЛ23 | 4.40 | 62.45 | 21.61 | 9.81 | 1.63 |
| АЛ24 | 4.51 | 64.98 | 20.37 | 8.62 | 1.52 |
| АЛ25 | 3.93 | 64.34 | 19.17 | 8.94 | 2.67 |
| АЛ26 | 4.46 | 64.42 | 19.51 | 9.06 | 2.07 |
| АЛ27 | 4.29 | 64.52 | 19.04 | 8.17 | 0.98 |
| АЛ28 | 4.06 | 68.18 | 19.45 | 7.21 | 1.1 |
| АЛ29 | 3.99 | 66.85 | 21.52 | 6.5 | 1.14 |
| АЛ30 | 4.25 | 67.44 | 19.88 | 7.22 | 1.21 |
| АЛ31 | 3.97 | 66.01 | 20.59 | 7.6 | 1.67 |
| АЛ32 | 4.39 | 62.21 | 23.84 | 8.48 | 1.08 |
| АЛ33 | 4.66 | 63.60 | 22.26 | 8.57 | 0.91 |
| АЛ34 | 4.44 | 62.45 | 22.46 | 9.31 | 1.34 |
| s | 0.408 | 1.628 | 1.417 | 0.807 | 0.375 |
| V, % | 10.0 | 2.53 | 7.0 | 9.79 | 26.09 |

зилось на 29.1%. Изменчивость эйкозеновой кислоты у линий очень высокая, коэффициент вариации составил 74.57%.

При оценке перспективности линий особое внимание уделяют содержанию эруковой кислоты в масле и наличию глюкозинолатов в жмыхе (шроте). Биохимический анализ семян АЛ показал, что 19 линий (54.28%) содержали минимальное количество эруковой кислоты (0.01%), 15 линий или 42.86% содержали эруковую кислоту от 0.03 до 0.95%. Среднее значение содержания эруковой кислоты у АЛ выше, чем у донорного сорта на 0.13%.

Следует отметить, по результатам корреляционного анализа данные жирнокислотного состава масла в семенах ярового рапса показывают отрицательную зависимость биосинтеза между пальмитиновой и олеиновой ($r=-0.43$), олеиновой и линолевой ($r=-0.61$), олеиновой и линоленовой ($r=-0.45$), олеиновой и эйкозеновой ($r=-0.84$) кислот. Получена слабая корреляционная связь между кислотами – пальмитиновой и линолевой ($r=0.24$), пальмитиновой и линоленовой ($r=0.26$), пальмитиновой и эйкозеновой ($r=0.20$), линолевой и линоленовой ($r=0.12$), линолевой и эйкозеновой ($r=0.24$), линоленовой и эйкозеновой ($r=0.23$).

Выявлена низкая связь между эруковой и пальмитиновой кислотами $r=0.22$, сильная отрицательная связь получена между олеиновой и эруковой кислотами $r=-0.85$. Связь между эруковой кислотой и непредельными кислотами (линолевой и линоленовой) слабая и составляет $r=0.29$, $r=0.20$, соответственно. Установлена сильная корреляционная связь между эруковой и эйкозеновой кислотами $r=0.98$.

У изучаемых линий ярового рапса интервал по накоплению глюкозинолатов в семенах находится в пределах от 0.0 до 1.26%. Линии с пониженным содержанием глюкозинолатов (меньше донорного сорта) составили 91.4% (32 шт.) и только 3 линии или 8.6% имели глюкозинолатов больше донорного сорта.

Заключение

Из анализа полученных данных следует, что из современного сорта с высоким качеством масла и шрота можно получать гомозиготные линии с улучшенным качеством масла и шрота. Выделенные нами линии можно использовать в качестве исходного материала для гетерозисной селекции, а также для улучшения качества масла у традиционных сортов.

Литература

1. Патент 2557316 Р Ф, МПК А01Н. Brassica juncea Качества Омега-9 / Рипли Ван Леонард, Томпсон Стивен Арнольд, Элерт Зое Кристина. – №201112206/10; заявл. 04.11.2009; опубл. 20.07.2015, Бюл. № – 20.

2. Robbelen G. Nitsch A. Genetical and physiological investigations on mutants for polyenoic fatty acids in rapeseed, *B. napus* L. // *ZeitschriftPflanzenzuchtg* 1975. Vol. 75. Pp. 93–105.
3. Roy N. N. Tarr A. W. Development of near-zero linolenic acid (18:3) lines of rapeseed *Brassica napus* L. // *Plant Breeding*. 1986. Vol. 96. Pp. 218–223.
4. Scarth R., McVetty P. B. E., Rimmer S. R., Stefansson B. R. Stellar low linoletic – high linolenic acid summer rape // *Can. J. Plant Sci.* 1988. Vol. 68. Pp. 509–511.
5. Brunklaus-Jung E. Robbelen G. Genetical and physiological investigations on mutants for polyenoic fatty acids in rapeseed (*Brassica napus* L.). // *Plant Breeding*. 1987. Vol. 98. Pp. 9–13.
6. Жолик Г. А. Биологические аспекты формирования семенной продуктивности ярового рапса различных сроков посева // *Вестн. Бел. Гос. с.-х. академии*. 2005. №1. С. 52–55.
7. Жолик Г. А. Продуктивность и кормовая ценность озимого и ярового рапса при интенсивной технологии возделывания на дерново-подзолистых суглинистых почвах Белоруссии: дис. ... канд. с.-х. наук. Бел. с.-х. акад. Горки, 1994. 96 с.
8. Карпачев В. В. Рапс яровой. Основы селекции: монография. // Липецк. ГНУ ВНИПТИ рапса, 2008. 236 с.
9. Scarth, R. Developments in thi breeding of edible oil *Brassica napus* and *B. rapa* // *Rapeseed today and tomorrow*. 9th international rapeseed congress. Cambridge. UK. 4–7 july. 1995. №2. Pp. 377–382.
10. Муравлев А. А. Культура пыльников в селекции рапса: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов. 2007. 24 с.
11. Демьянчук Г. Т., Мельник М. В., Лысюк В. И., Микитин Н. С. Оценка селекционного материала рапса и сурепицы на содержание эруковой кислоты и глюкозинолатов. // *Методические рекомендации*. Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук им. Ленина. М.: 1988. 16 с.
12. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) // М.: Агропромиздат. 1985. 351 с.

Biochemical assessment androclinic lines of spring rape (*Brassica Napus* L.)

A. Muravlev*, E. Chesnokova, I. Shilovskih

*All-Russian Rapeseed Research Institute
26 Boevoy proezd, 398037 Lipetsk, Russia.*

**Email: anatoly.muravleff@yandex.ru*

The modern level of processing industry development places high demands on breeds of spring planted rape. The necessity of creating new breeds with improved fatty-acid composition has become obvious. Mutagenesis, genetic transformation

and cross-species hybridization are used to create them. The possibility of using biotechnical methods in creation of new plants with required features is becoming interesting. Androclinium lines of spring rape are obtained by using anther cultures *in vitro*. Anthers cultures were isolated from the donor plant breed Likolli. Seeds bio-chemical analysis has shown difference in the composition of fatty acids between the lines and donor breed. Lines (AL22 and AL28), containing more than 68.0% oleic acid, were extracted which in donor breed was 64.97%. Changes were also found with regard to composition of palmitic (C16:0), linoleic (C18:2), linolenic (C18:3) and eicosenic (C20:1) acids.

Keywords: rape, anther, androclinium lines, fatty-acid composition oleic acid, linoleic acid, linolenic acid.