**Селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений**

УДК 633.854.78:575

DOI: 10.25230/2412–608X–2020–2–182–3–12

**Создание и изучение
рекомбинантных инбредных
линий подсолнечника
с различным содержанием
олеиновой кислоты
в масле семян**

Я.Н. Демури,
доктор биологических наук, профессор
Ю.В. Чебанова,
кандидат биологических наук
О.М. Борисенко,
кандидат биологических наук
С.З. Гучетль,
кандидат биологических наук
Д.Л. Савиченко,
научный сотрудник
С.Г. Ефименко,
кандидат биологических наук
О.А. Рубанова
аспирант
А.А. Широких,
магистрант
В.Д. Шамрай,
школьник

ФГБНУ ФНЦ 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., Гучетль С.З., Савиченко Д.Л., Ефименко С.Г., Рубанова О.А., Широких А.А., Шамрай В.Д. Создание и изучение рекомбинантных инбредных линий подсолнечника с различным содержанием олеиновой кислоты в масле семян // Масличные культуры. – 2020. – Вып. 2 (182). – С. 3–12.

Ключевые слова: олеиновая кислота, линия, скрещивание, молекулярный маркер, мутация.

Создание и изучение рекомбинантных инбредных линий является эффективным методом в селекционно-генетической работе с полигенными признаками. В нашем исследовании подобный подход использован для признака содержания

олеиновой кислоты в масле семян подсолнечника. Опыты проводили в полевых и лабораторных условиях во ВНИИМК, г. Краснодар в период 2012–2020 гг. Для получения рекомбинантных инбредных линий с различным количеством олеиновой кислоты в масле семян проводили скрещивание, самоопыление и дисруптивный отбор для трех реципрокных комбинаций ЛГ27 × ЛГ28, ЛГ27 × ВК678 и ЛГ27 × ЛГ26. Линия ЛГ26 обладает высокоолеиновым фенотипом, ЛГ27 – среднеолеиновым, ВК678 – повышеноолеиновым и ЛГ28 – низкоолеиновым. Анализ жирно-кислотного состава масла семян подсолнечника проводили с использованием метода газожидкостной хроматографии метиловых эфиров на приборах Хром-5 и Хроматэк-Кристалл 5000. Молекулярно-генетическое маркирование высокоолеиновых образцов подсолнечника проводили с использованием двух пар праймеров: F13/R5 и F4/R1. Исходные родительские линии ЛГ28, ВК678, ЛГ27 и ЛГ26 подтвердили принадлежность к своим фенотипическим классам. При этом с увеличением содержания олеиновой кислоты с 29 до 88 % наблюдалось существенное снижение значений показателя изменчивости признака в пределах классов CV с 14 до 1 %. Созданные рекомбинантные инбредные линии подсолнечника F₅ при скрещиваниях среднеолеиновой ЛГ27 охватывают широкий интервал значений содержания олеиновой кислоты (от 30 до 92 %) в масле семян и являются ценным материалом для дальнейших исследований. Доказана полная эффективность использования молекулярного маркера F4/R1 в идентификации мутации высокоолеиновости у линий с высоким содержанием олеиновой кислоты в фенотипическом интервале 87–92 %. При этом полученные среднеолеиновые рекомбинантные инбредные линии и ЛГ27 не обладают мутацией *Ol*.

UDC 633.854.78:575

Development and study of recombinant inbred lines of sunflower with different content of oleic acid in seed oil.

Ya.N. Demurin, doctor of biology
Yu.V. Chebanova, PhD in biology
O.M. Borisenko, PhD in biology
S.Z. Guchetl, PhD in biology
D.L. Savichenko, researcher
S.G. Efimenko, PhD in biology
O.A. Rubanova, post-graduate student
A.A. Shirokikh, Master' degree student
V.D. Shamray, schoolgirl

V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops (VNIIMK)
17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia
Tel.: (861) 254-23-33
E-mail: vniimk@vniimk.ru

Key words: oleic acid, line, cross, molecular marker, mutation.

The creation and study of recombinant inbred lines is an effective method in breeding and genetic work with polygenic traits. In our study, a similar approach was used to indicate the content of oleic acid in sunflower seed oil. The experiments were carried out in the field and laboratory conditions in VNIIMK, Krasnodar, in the period 2012–2020. To obtain recombinant inbred lines with different contents of oleic acid in seed oil, hybridization, self-pollination and disruptive selection were used for three reciprocal combinations LG27 × LG28, LG27 × VK678 and LG27 × LG26. The LG26 line has a high oleic phenotype, LG27 has a mid-oleic, VK678 has an increased oleic and LH28 has a low oleic. The analysis of the fatty acid composition of sunflower seed oil was carried out using the method of gas-liquid chromatography of methyl esters on Chrom-5 and Chromatek-Crystal 5000 instruments. Molecular genetic marking of high oleic sunflower samples was performed using two pairs of primers: F13/R5 and F4/R1. The initial parental lines LG28, VK678, LG27 and LG26 confirmed their belonging to their phenotypic classes. At the same time, with an increase in the oleic acid content from 29 to 88%, a significant decrease in the values of variability of the trait within classes CV from 14 to 1% was observed. The created recombinant inbred lines of sunflower F₅ for crossing mid-oleic LG27 cover a wide range of oleic acid content from 30 to 92% in seed oil and are valuable material for further research. The full efficiency of using the molecular marker F4/R1 in the identification of high oleic mutations in lines with high oleic acid content in the phenotypic range of 87–92% has been proved. In this case, the mid-oleic LG27 and the mid-oleic developed recombinant inbred lines do not possess the *Ol* mutation.

Введение. Начиная с 1976 г., когда во ВНИИМК впервые в мире был создан высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец [1], инициируется новый этап в селекции подсолнечника на качество масла. В первоначальных работах по изучению генетического контроля высокоолеиновости установлено, что этот признак контролируется одним доминантным геном *Ol* [2] либо одним частично доминантным геном [3]. Последующие исследования указали на присутствии гена-модификатора *Ml*, гомозиготное рецессивное состояние которого позволяет полностью проявляться мутации высокоолеиновости, тогда как генотип *OlolMlml* дает промежуточный фенотипический класс с содержанием

олеиновой кислоты около 48–72 % [4; 5]. Fernandez-Martinez et al. обнаружили, что признак высокоолеиновости контролировался тремя доминантными комплементарными генами *Ol₁*, *Ol₂* и *Ol₃* [6], позже данную гипотезу подтвердили Perez-Vich et al. [7]. В ходе дальнейших исследований Velasco et al. предложили гипотезу о пяти комплементарных генах, регулирующих содержание олеиновой кислоты (*Ol₁*, *Ol₂*, *Ol₃*, *Ol₄* и *Ol₅*) [8].

Во ВНИИМК в результате проведенного гибридологического анализа установлено, что признак высокоолеиновости контролируется одним доминантным геном *Ol* с неполной пенетрантностью в гетерозиготе [9]. Кроме того, было обнаружено наличие супрессора, обуславливающего неполное проявление гена *Ol* в гетерозиготном состоянии [10]. У низкоолеиновой линии RIL100, созданной во Франции, доказано наличие мутации *Ol* в гипостатическом состоянии за счет влияния генов-супрессоров. Обнаружено также, что линия ЛГ26 характеризуется устойчивостью мутации *Ol* к действию супрессора [11].

В настоящее время большое внимание уделяется изучению молекулярных причин изменения содержания жирных кислот в масле семян подсолнечника. Lacombe et al. обнаружили, что высокое содержание олеиновой кислоты в сорте Первенец контролировалось двумя независимыми локусами, первый представлен *oleHOS* аллелем, а другой – *FAD2-1* аллелем [12]. Hongtrakul et al. объединяют ген *Ol* с геном OLD-7 (*FAD 2-1*), проявление которого слабо выражено у высокоолеиновых генотипов, но сильно выражено у обычных генотипов [13]. Pérez-Vich et al. установили, что QTL (qualitative trait loci – локусы количественного признака, ЛКП) для олеиновой кислоты расположены в локусе OLD-7 (14-я группа сцепления) и предположили, что он является модификатором *Ol* [7]. Premnath et al. также картировали ген *Ol* в 14-й группе сцепления (LG) и связали с маркером HO_Fspb.

Кроме того, в группах сцепления LG8 и LG9 идентифицировано еще два QTL для содержания олеиновой кислоты [14].

Schuppert et al. показали, что мутация *Ol* коррелирует со значительно сниженной экспрессией FAD2-1. Было обнаружено, что мутант несет tandemные повторы FAD2-1, разделенные межгенной областью. Эти ученые разработали кодоминантные маркеры SSR и INDEL для FAD2-1 с целью диагностики наличия мутации *Ol* [15].

В Индии провели изучение двух линий и их гибрида с использованием молекулярных маркеров SSR и INDEL, которые связаны с высоким содержанием олеиновой кислоты. Результаты позволили проверить один SSR (N1-3F/N1-3R) и два INDEL (F4/R1 и F4/R2) маркера в генотипах подсолнечника для идентификации признака высокого содержания олеиновой кислоты [16]. В Сербии протестировали несколько молекулярных маркеров для ускорения селекции при обнаружении высокоолеиновых генотипов. Было доказано, что маркер F4/R1 наиболее эффективен при идентификации генотипов с мутацией *Ol* в поколении F₂ [17].

Изучению признака среднеолеиновости уделялось относительно меньше внимания. В 1999 г. в USDA (г. Фарго, США) были выведены среднеолеиновые линии подсолнечника HA421, HA422 и HA424, содержащие около 63–67 % олеиновой кислоты в масле семян [18]. Однако среднеолеиновый фенотип этих линий связан с гетерозиготностью и расщеплением по мутации высокоолеиновости [19], тогда как в генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК содержится линия ЛГ27 с гомозиготным константным среднеолеиновым фенотипом [20]. Первоначально во ВНИИМК была высказана гипотеза о том, что признак повышенного содержания олеиновой кислоты линии ЛГ27 контролируется рецессивным аллелем, обозначенным *ol'*, отличающимся как от мутации *Ol*, так и от аллеля дикого типа *ol* [20]. Позже было доказано, что признак

среднеолеиновости ЛГ27 находится под контролем аддитивной олигогенной системы с материнским эффектом в F₁ и отсутствием материнского наследования в F₂ и F₃ [21; 22]. Однако молекулярно-генетического тестирования на наличие мутации *Ol* у линии ЛГ27 не проводилось.

В 1999 г. в США в соответствии с запросом пищевой промышленности было выпущено на рынок среднеолеиновое подсолнечное масло NuSun [23]. Высокоолеиновые гибриды подсолнечника выращиваются в нашей стране [24; 25], а создание и коммерциализация среднеолеиновых гибридов находятся на начальном этапе развития. Однако в других странах мира, например, США и Канаде, среднеолеиновые гибриды подсолнечника уже около 20 лет составляют основную долю посевных площадей этой культуры. По международной классификации типов подсолнечного масла CODEX Stan 210 традиционное масло содержит 14–39 % олеиновой кислоты, среднеолеиновое – 43–72 %, а высокоолеиновое – 75–91 % [26]. Главное преимущество среднеолеинового масла в том, что оно обладает оптимальным сочетанием высокой окислительной стабильности и достаточным содержанием эссенциальной линолевой кислоты около 20 %.

Создание и изучение рекомбинантных инбредных линий (РИЛ, RIL) является эффективным методом в селекционно-генетической работе с разными признаками, особенно с полигенными. Цель данного исследования заключалась в использовании подобного подхода к признаку содержания олеиновой кислоты в масле семян подсолнечника.

Материалы и методы. Опыты проводили в полевых и лабораторных условиях во ВНИИМК, г. Краснодар, в период 2012–2020 гг. Агроклиматические условия, сложившиеся в период проведения полевых исследований, можно считать удовлетворительными для изучаемой культуры. Закладку опытов, включая

скрещивания и принудительное самоопыление растений, выполняли согласно общепринятой методике.

Использовали константные линии генетической коллекции подсолнечника ВНИИМК: высокоолеиновую – ЛГ26; среднеолеиновую – ЛГ27; повышенно-олеиновую – ВК678; низкоолеиновую – ЛГ28. Кроме того, линия ЛГ26 обладает рядом морфологических особенностей, в частности оранжевыми узкояйцевидными язычковыми цветками и оранжевыми с антоцианом в отгибе венчика трубчатыми цветками.

Анализ жирно-кислотного состава масла семян подсолнечника проводили в лаборатории биохимии с использованием метода газожидкостной хроматографии метиловых эфиров на приборах Хром-5 и Хроматэк-Кристалл 5000. Статистическую обработку данных проводили в программе Microsoft Excel 2010.

Геномную ДНК выделяли из семядольных листьев 5–7-дневных этиолированных проростков подсолнечника с помощью модифицированного метода Saghai-Maroo et al. [27] с использованием СТАВ буфера. Для проведения ПЦР использовали 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-НСl, pH 8,8; 16,6 мМ сульфата аммония; 1,5–3 мМ MgCl₂; 0,01 % Tween 20; по 0,2 мМ дезоксирибонуклеозидфосфатов; по 10 пМ праймеров; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (Сибэнзим, Москва). Амплификацию выполняли в термоциклере S1000™ (BioRad, США). Условия амплификации: начальная денатурация при 96 °C в течение 2 мин.; затем 30 циклов при соблюдении температурно-временного режима: отжиг при 60 °C в течение 40 сек, элонгация – 1 мин при 70 °C, денатурация при 94 °C – 30 сек, финальная элонгация – 2 мин. Использовали четыре INDEL праймера F4, F13, R1, R5, разработанных Schuppert et al. [15]. Праймеры были изготовлены ООО «Синтол» (Москва, Россия). Электрофорез продуктов ампли-

фикации проводили в агарозном геле (2 % агароза, 1 x SB-буфер) с использованием камеры для горизонтального электрофореза (SE.2, ДНК-технология, Россия) в течение 1–1,5 часов при силе тока 58 mA и напряжении 90–100 V. Последующее окрашивание осуществляли бромистым этидием. Визуализация результатов электрофореза в ультрафиолетовом свете и их документирование обеспечивали при помощи системы цифровой документации видеоизображения BIO-PRINT (Vilber Lourmat, Франция). Размер фрагментов ДНК определяли с использованием программного обеспечения Bio-Capture (Vilber Lourmat, Франция) относительно маркера длины фрагментов ДНК GeneRuler 100 bp DNA Ladder Thermo Scientific (Сибэнзим, Россия).

Результаты и обсуждение. Для получения рекомбинантных инбредных линий с различным количеством олеиновой кислоты в масле семян проводили скрещивание, самоопыление и дисруптивный отбор для трех реципрокных комбинаций ЛГ27 × ЛГ28, ЛГ27 × ВК678 и ЛГ27 × ЛГ26 (табл. 1).

В 2012 г. были получены семена F₁. После самоопыления растений в 2013 г. сформировались семена F₂ (I₁F₁), которые были индивидуально проанализированы с сохранением жизнеспособности зародыша. От выращенных в 2014 г. растений из контрастных фенотипических классов получены инбредные семена I₂ с минимальным и максимальным проявлением признака. На каждой делянке самоопыляли по 5 растений. Семена поколения I₃ получили в 2015 г. без проведения анализов. В 2016 г. отобрали 145 самоопыленных корзинок поколения I₄ (линии F₅) от всех реципрокных скрещиваний (табл. 1). Кроме того, в 2019 г. для части линий проведено очередное самоопыление.

В поколении I₄ от скрещивания ЛГ28 и ЛГ27 выделили 46 линий с содержанием олеиновой кислоты в пределах 29,8–56,9 %. Из них 14 вошли в обычный (30–40 % C_{18:1}), 31 – в повышенноолеиновый (41–54 %), одна линия (56,9 %) – в среднеолеиновый фенотипический класс (табл. 1, табл. 2).

Таблица 1

Рекомбинантные линии от реципрокных скрещиваний линий ЛГ27 и ВК678 в количестве 57 штук содержали от 36,5 до 64,8 % олеиновой кислоты. Из них пять линий относились к обычному классу (30–40 % $C_{18:1}$), 35 – к повышенноолеиновому (41–54 %), 17 – к средне-олеиновому (55–65 %) (табл. 1, табл. 2).

Гибридизация ЛГ27 и ЛГ26 дала 42 рекомбинантные линии I_4 с большим интервалом варьирования (до 50 %) по содержанию олеиновой кислоты. Эти линии вошли в четыре фенотипических класса: две – в обычный класс (30–40 % $C_{18:1}$), 13 – в повышенноолеиновый (41–54 %), 10 – в среднеолеиновый (55–77 %) и 11 – в высокоолеиновый (86–92 %). Из них семь линий являются супер-высокоолеиновыми (90–92 % $C_{18:1}$), т.е. за счет положительной трансгрессии получены генотипы с проявлением признака выше, чем у родительской высокоолеиновой линии ЛГ26 (табл. 1, табл. 2).

Родительские линии ЛГ28, ВК678, ЛГ27 и ЛГ26 подтвердили свой низко-, повышено-, средне- и высокоолеиновый фенотип соответственно (табл. 2). При этом с увеличением содержания олеиновой кислоты с 29,3 до 87,9 % наблюдается очевидное снижение значений показателя изменчивости признака CV с 14 до 1 %.

Молекулярное маркирование высокоолеиновых образцов подсолнечника проводили с использованием двух пар праймеров: F13/R5 и F4/R1. Пара праймеров F13/R5 в результате ПЦР гибридизуется с ДНК как высокоолеинового, так и линолевого фенотипа, то есть происходит амплификация участка ДНК, несмотря на наличие или отсутствие мутации *Ol* [15]. Данный локус использовался как положительный контроль для исключения ложноотрицательного результата на наличие маркируемой мутации. Испытываемые образцы в результате ПЦР ДНК

выявили фракцию размером около 340 п. н., характеризующую как мутантный, так и нормальный генотипы (рис. 1, табл. 3).

Рисунок 1 – Электрофоретические спектры ДНК образцов подсолнечника при амплификации с праймерами F13/R5
Примечание: дорожки 1–3 – № 13; 4–6 – № 3; 7–9 – № 8; 10–12 – № 7; 13–15 – № 21; М – маркер молекулярного веса 100 п. н.; 17 – отрицательный контроль. Стрелкой обозначен фрагмент ДНК 340 п. н., присутствующий у всех генотипов (положительный контроль).
№ образца из таблицы 3

Доминантный INDEL маркер F4/R1 разработан для диагностики наличия мутации *Ol* у подсолнечника [15]. В испытываемой коллекции RIL пара праймеров F4/R1 амплифицировала фракцию ДНК примерно 590 п. н. у высокоолеиновых образцов. Эта полоса отсутствовала в образцах подсолнечника с низкоолеиновым фенотипом (рис. 2, табл. 3).

Рисунок 2 – Электрофоретические спектры ДНК образцов подсолнечника при амплификации с праймерами F4/R1.
Примечание: дорожки 1–3 – № 13; 4–6 – № 3; 7–9 – № 8; 10–12 – № 7; 13–15 – № 21; М – маркер молекулярного веса 100 п. н.; 17 – отрицательный контроль. Стрелкой обозначен фрагмент ДНК 590 п. н., маркирующий мутацию высокоолеиновости масла.
№ образца из таблицы 3

Таблица 3

Наличие мутации *Ol* в рекомбинантных инбредных линиях подсолнечника

ВНИИМК, г. Краснодар, 2020 г.

№	Генотип	Содержание $C_{18:1}$, %	Маркер F4/R1 мутации <i>Ol</i>
1	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	92,2	+
2	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	92,2	+
3	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	92,0	+
4	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	91,3	+
5	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	91,3	+
6	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	91,1	+
7	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	90,6	+
8	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	89,5	+
9	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	89,4	+
10	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	88,5	+
11	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	87,6	+
12	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	86,5	+
13	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	65,5	-
14	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	62,8	-
15	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	58,8	-
16	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	58,5	-
17	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	58,2	-
18	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	55,6	-
19	F ₆ ЛГ26 × ЛГ27	53,4	-
20	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	48,3	-
21	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	47,5	-
22	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	47,0	-
23	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	42,1	-
24	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	40,9	-
25	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	39,8	-
26	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	39,8	-
27	F ₆ ЛГ27 × ЛГ26	39,0	-
	ЛГ26, <i>high oleic</i>	88,2	+
	ЛГ27, <i>mid oleic</i>	65,9	-

С помощью вышеперечисленных пар праймеров в 2020 г. проанализировано, в сумме, 27 рекомбинантных инбредных линий подсолнечника F₆ (I₅F₁) урожая 2019 г. Молекулярный маркер F13/R5, используемый в качестве положительного контроля, показал наличие контрольной фракции ДНК у всех анализируемых линий (табл. 3). Одновременно с этим при проведении каждой ПЦР использовался отрицательный контроль для исключения ложноположительного результата. Для этого к реакционной смеси добавляли H₂O, не содержащую ДНК. Таким образом, минимизировались как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты анализа.

Из 27 рекомбинантных инбредных линий мутация *Ol*, маркируемая локусом F4/R1, была выявлена у 12 с содержанием олеиновой кислоты в масле семян от 86,5

до 92,2 %. В оставшихся 15 линиях с содержанием олеиновой кислоты 39,0–65,5 % фракция ДНК, маркирующая мутацию *Ol*, не обнаружена. При этом из вышеуказанных 15 линий шесть (№ 13–18) относятся с среднеолеиновым. Родительская высокоолеиновая линия ЛГ26, как и следовало ожидать, показала наличие молекулярного маркера мутации, а среднеолеиновая ЛГ27 характеризовалась его отсутствием (табл. 3). Таким образом, с использованием молекулярных маркеров было доказано присутствие в изученных генотипах мутации *Ol*, которая обуславливает высокое содержание олеиновой кислоты в масле семян подсолнечника.

Выводы. Созданные рекомбинантные инбредные линии подсолнечника F₅ при скрещивании среднеолеиновой ЛГ27 с высокоолеиновой ЛГ26, повышенноолеиновой ВК678 и низкоолеиновой ЛГ28 охватывают широкий интервал значений содержания олеиновой кислоты от 30 до 92 % в масле семян и являются ценным материалом для дальнейших исследований, включая молекулярно-генетические подходы. Доказана полная эффективность использования молекулярного маркера F4/R1 в идентификации мутации высокоолеиновости у линий с высоким содержанием олеиновой кислоты в фенотипическом интервале 87–92 %. При этом полученные среднеолеиновые рекомбинантные инбредные линии и ЛГ27 не обладают мутацией *Ol*.

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

Список литературы

1. Солдатов К.И., Воскобойник Л.К., Харченко Л.Н. Высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец // Бюл. НТИ по масличным культурам. – 1976. – Вып. 3. – С. 3–7.

2. Urie A.L. Inheritance of very high oleic acid content in sunflower // Proc. of Sunflower Research Forum. – National Sunflower Association, Bismarck, ND, 1984. – P. 9–10.

3. Fick G.N. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower // Proc. of Sunflower Research Forum. – National Sunflower Association, Bismarck, ND, 1984. – P. 9.

4. Urie A.L. Inheritance of high oleic acid in sunflower // Crop Science. – 1985. – Vol. 25. – No 6. – P. 986–989.

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. Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M., Grondona M., Knapp S.J., Berry S.T. Stearoyl-ACP and oleoyl-PC desaturase genes cosegregate with quantitative trait loci underlying high stearic and high oleic acid mutant phenotypes in sunflower // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – Vol. 104. – P. 338–349.

8. Velasco L., Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M. Inheritance of oleic acid content under controlled environment // Proc. of 15th International Sunflower Conference, France, Toulouse, June 12–15, 2000. – Vol. 1. – P. A31–A36.

9. Demurin Y., Škorić D. Unstable expression of *Ol* gene for high oleic acid content in sunflower seeds // Proc. of 14th International Sunflower Conference, China, Shenyang, Beijing, June 12–20, 1996. – P. 145–150.

10. Demurin Y., Efimenko S., Borisenko O. A screening for suppressor genotypes on a high oleic mutation in sunflower // Proc. of 16th International Sunflower Conference, Fargo, ND, USA, August 29 – September 2, 2004. – Vol. 2. – P. 779–782.

11. Демури́н Я.Н., Борисенко О.М. Устойчивость мутации высокоолеиновости масла к действию супрессора в семенах подсолнечника // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2009. – Вып. 1 (140). – С. 18–21.

12. Lacombe S., Abbott A.G., Berville A. Repeats of an oleate desaturase region cause silenc-

ing of the normal gene explaining the high oleic Pervenets sunflower mutant // Helia. – 2002. – Vol. 25. – No 36. – P. 95–104.

13. Hongtrakul V., Slabaugh M.B., Knapp S. A seed specific Δ -12 oleate desaturase gene is duplicated, rearranged and weakly expressed in high oleic acid sunflower lines // Crop Science. – 1998. – Vol. 38. – P. 1245–1249.

14. Premnath A., Narayana M., Ramakrishnan C., Kuppusamy S., Chockalingam V. Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Molecular Breeding. – 2016. – Vol. 36. – P. 106.

15. Schuppert G.F., Tang S., Slabaugh M.B., Knapp S.J. The sunflower high-oleic mutant *Ol* carries variable tandem repeats of *fad2-1*, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase // Molecular Breeding. – 2006. – Vol. 17. – P. 241–256.

16. Tilak I.S., Kisan B. Evaluation of SSR and INDEL markers associated with high and low oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes // Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. – 2017. – Vol. 6 (5). – P. 1560–1563.

17. Dimitrijević A., Imerovski I., Miladinović D., Cvejić S., Jocić S., Zeremski T., Sakač Z. Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high- and low-oleic sunflower cross // Crop Breeding and Applied Biotechnology. – 2017. – Vol. 17. – P. 235–241.

18. Miller J.F., Vick B.A. Registration of four mid-range oleic acid sunflower genetic stocks // Crop Science. – 2002. – Vol. 42. – No 3. – P. 994–994.

19. Чебанова Ю.В., Борисенко О.М. Гетерогенность среднеолеиновых линий подсолнечника НА421, НА422 и НА424 по содержанию олеиновой кислоты в масле семян // IX всероссийская конференция молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных и других технических культур». – Краснодар, 2017. – С. 157–160.

20. Demurin Ya., Skoric D., Veresbaranji I., Jocić S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // Helia. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.

21. Демури́н Я.Н., Бори́сенко 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.

22. Демури́н Я.Н., Бори́сенко О.М., Чеба́нова Ю.В. Наследование признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов второго и третьего поколений // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2018. – Вып. 3 (175). – С. 3–8.

23. Fernandez-Martinez J.M., Perez-Vich B., Velasco L. Sunflower // In: Oil Crops, Handbook of Plant Breeding, V. 4 / Ed. J. Vollmann and I. Rajcan. – Springer, 2009. – P. 155–232.

24. Мельникова Ю.В., Рубцова С.Н., Пахомова Т.Н., Панченко В.В. Экономико-математическое моделирование конъюнктуры российского рынка высокоолеинового подсолнечника // Вестник Алтайской академии экономики и права. – 2019. – № 2–2. – С. 292–298.

25. Литвиненко Г.Н., Терещенко Ю.А. Комплексный анализ производства и переработки высокоолеинового подсолнечника // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2017. – № 64. – С. 31–36.

26. CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS. Adopted 1999. Revisions 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011. – 16 p.

27. Saghai-Marooof M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS USA. – 1984. – 81. – P. 8014–8018.

References

1. Soldatov K.I., Voskoboynik L.K., Kharchenko L.N. Vysokooleinovyy sort podsolnechnika Pervenets // Byul. NTI po maslichnym kul'turam. – 1976. – Vyp. 3. – S. 3–7.

2. Urie A.L. Inheritance of very high oleic acid content in sunflower // Proc. of Sunflower

Research Forum. – National Sunflower Association, Bismarck, ND, 1984. – P. 9–10.

3. Fick G.N. Inheritance of high oleic acid in the seed oil of sunflower // Proc. of Sunflower Research Forum. – National Sunflower Association, Bismarck, ND, 1984. – P. 9.

4. Urie A.L. Inheritance of high oleic acid in sunflower // Crop Science. – 1985. – Vol. 25. – No 6. – P. 986–989.

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. Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M., Grondona M., Knapp S.J., Berry S.T. Stearoyl-ACP and oleoyl-PC desaturase genes cosegregate with quantitative trait loci underlying high stearic and high oleic acid mutant phenotypes in sunflower // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – Vol. 104. – P. 338–349.

8. Velasco L., Perez-Vich B., Fernandez-Martinez J.M. Inheritance of oleic acid content under controlled environment // Proc. of 15th International Sunflower Conference, France, Toulouse, June 12–15, 2000. – Vol. 1. – P. A31–A36.

9. Demurin Y., Škorić D. Unstable expression of Ol gene for high oleic acid content in sunflower seeds // Proc. of 14th International Sunflower Conference, China, Shenyang, Beijing, June 12–20, 1996. – P. 145–150.

10. Demurin Y., Efimenko S., Borisenko O. A screening for suppressor genotypes on a high oleic mutation in sunflower // Proc. of 16th International Sunflower Conference, Fargo, ND, USA, August 29 – September 2, 2004. – Vol. 2. – P. 779–782.

11. Demurin Ya.N., Borisenko O.M. Ustoychivost' mutatsii vysokooleinovosti masla k deystviyu supressora v semenakh podsolnechnika // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2009. – Vyp. 1 (140). – S. 18–21.

12. Lacombe S., Abbott A.G., Berville A. Repeats of an oleate desaturase region cause silencing of the normal gene explaining the high

oleic Rervenets sunflower mutant // *Helia*. – 2002. – Vol. 25. – No 36. – P. 95–104.

13. Hongtrakul V., Slabaugh M.B., Knapp S. A seed specific Δ -12 oleate desaturase gene is duplicated, rearranged and weakly expressed in high oleic acid sunflower lines // *Crop Science*. – 1998. – Vol. 38. – P. 1245–1249.

14. Premnath A., Narayana M., Ramakrishnan C., Kuppasamy S., Chockalingam V. Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Molecular Breeding*. – 2016. – Vol. 36. – P. 106.

15. Schuppert G.F., Tang S., Slabaugh M.B., Knapp S.J. The sunflower high-oleic mutant Ol carries variable tandem repeats of fad2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase // *Molecular Breeding*. – 2006. – Vol. 17. – P. 241–256.

16. Tilak I.S., Kisan B. Evaluation of SSR and INDEL markers associated with high and low oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) genotypes // *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. – 2017. – Vol. 6 (5). – P. 1560–1563.

17. Dimitrijević A., Imerovski I., Miladinović D., Cvejić S., Jocić S., Zeremski T., Sakač Z. Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high- and low-oleic sunflower cross // *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. – 2017. – Vol. 17. – P. 235–241.

18. Miller J.F., Vick B.A. Registration of four mid-range oleic acid sunflower genetic stocks // *Crop Science*. – 2002. – Vol. 42. – No 3. – P. 994–994.

19. Chebanova Yu.V., Borisenko O.M. Geterogenost' sredneoleinovykh liniy podsolnechnika NA421, NA422 i NA424 po sodержaniyu oleinoy kisloty v masle semyan // IX vserossiyskaya konferentsiya molodykh uchenykh i spetsialistov «Aktual'nye voprosy biologii, selektsii, tekhnologii vzdelyvaniya i pererabotki maslichnykh i drugikh tekhnicheskikh kul'tur». – Krasnodar, 2017. – S. 157–160.

20. Demurin Ya., Skoric D., Veresbaranji I., Jocić S. Inheritance of increased oleic acid content in sunflower seed oil // *Helia*. – 2000. – V. 23. – No 32. – P. 87–92.

21. Demurin Ya.N., Borisenko O.M., Chebanova Yu.V., Levutskaya A.N. Materinskiy

effekt v nasledovanii priznaka sredneoleinovosti masla v semenakh podsolnechnika u gibridov pervogo pokoleniya // *Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2016. – Vyp. 1 (165). – S. 16–21.

22. Demurin Ya.N., Borisenko O.M., Chebanova Yu.V. Nasledovanie priznaka sredneoleinovosti masla v semenakh podsolnechnika u gibridov vtorogo i tret'ego pokoleniy // *Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2018. – Vyp. 3 (175). – S. 3–8.

23. Fernandez-Martinez J.M., Perez-Vich B., Velasco L. Sunflower // In: *Oil Crops, Handbook of Plant Breeding*, V. 4 / Ed. J. Vollmann and I. Rajcan. – Springer, 2009. – P. 155–232.

24. Mel'nikova Yu.V., Rubtsova S.N., Pakhomova T.N., Panchenko V.V. Ekonomiko-matematicheskoe modelirovanie kon'yunktury rossiyskogo rynka vysokooleinovogo podsolnechnika // *Vestnik Altayskoy akademii ekonomiki i prava*. – 2019. – № 2–2. – S. 292–298.

25. Litvinenko G.N., Tereshchenko Yu.A. Kompleksnyy analiz proizvodstva i pererabotki vysokooleinovogo podsolnechnika // *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. – 2017. – № 64. – S. 31–36.

26. CODEX STANDARD FOR NAMED VEGETABLE OILS. Adopted 1999. Revisions 2001, 2003, 2009. Amendment 2005, 2011. – 16 p.

27. Saghai-Maroo M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // *PNAS USA*. – 1984. – 81. – P. 8014–8018.

Получено: 06.05.2020 Принято: 27.05.2020

Received: 06.05.2020 Accepted: 27.05.2020

Таблица 1

Схема получения рекомбинантных инбредных линий подсолнечника с различным содержанием олеиновой кислоты в масле семян, %

ВНИИМК, г. Краснодар, урожай 2012–2016 гг., анализы 2013–2018 гг.

Генотип	Год/поколение																	
	2012 F ₁	2013 I ₁	2014 I ₂	2015 I ₃	2016 I ₄													
ЛГ28 × ЛГ27	40	53	35	-	45	46	49	50	52									
		59	36		37	37	39	39	40	40	40	42	45	47	48			
		44	55		41	57												
		34	65		51													
ЛГ27 × ЛГ28	59	46	34	-	53	51	50											
		44	34		30	31	36	36	42	46								
		53	61		36	42	42	43	43	44	46	46	47	48	49	51	52	
		47	61		43	49	50	50	53									
ЛГ27 × ВК678	57	57	47	-	37	40	41	41	44									
		50	45		41	43	43	43	46	48								
		61	64		44	51	52	53	53	53	54	57	57	57	57	57	57	60
ВК678 × ЛГ27	57	59	40	-	47	51	51	51	54	54	55	55	55	56	56	60		
		59	40		38	38	40	41	47	48								
		47	64		46	49	50	51	53	53	54	54	58	62	65			
		60	67		44	46												
ЛГ27 × ЛГ26	90	53	51	-	41	42	46	48	48	51	52							
		44	54		39	40	43	47										
		92	91		88	88	88	89	89									
ЛГ26 × ЛГ27	85	54	64	-	53	53	53	54	56	57	57	57	58	59	63			
		66	63		58	62	66											
		93	93		88	89	89	89	90	91	91	91	92	92	92			
		93	89		87													

Таблица 2

Содержание олеиновой кислоты в масле семян рекомбинантных I₄ и родительских инбредных линий подсолнечника, %

ВНИИМК, г. Краснодар, урожай 2016 г.

Генотип	$\bar{x}$	S_x	s	s^2	CV	R	min	max
I ₄ ЛГ27 × ЛГ28	44,5	1,3	5,7	32,8	13	19,9	37,0	56,9
I ₄ ЛГ28 × ЛГ27	44,8	1,2	6,4	41,4	14	22,9	29,8	52,8
I ₄ ЛГ27 × ВК678	49,4	1,4	7,0	49,5	14	23,2	36,5	59,7
I ₄ ВК678 × ЛГ27	50,9	1,2	6,6	43,6	13	27,3	37,6	64,8
I ₄ ЛГ27 × ЛГ26	58,7	5,2	20,9	437,5	36	50,0	39,0	89,0
I ₄ ЛГ26 × ЛГ27	72,6	3,3	16,8	282,4	23	39,2	53,1	92,2
ЛГ28	29,3	0,9	4,1	17,0	14	13,8	23,5	37,3
ВК678	48,3	1,0	4,4	19,4	9	14,9	41,7	56,6
ЛГ27	66,1	0,5	4,2	17,8	6	22,5	53,7	76,2
ЛГ26	87,9	0,2	0,8	0,7	1	2,7	86,5	89,2
НСР ₀₅	6,8							

Примечание: $\bar{x}$ – среднее значение, S_x – ошибка среднего, s – стандартное отклонение, s^2 – дисперсия выборки, CV – коэффициент вариации, min – минимальное значение, max – максимальное значение, R – интервал варьирования, НСР₀₅ – наименьшая существенная разница на 5%-ном уровне значимости