

На правах рукописи

Чебанова Юлия Владимировна

**Наследование признака среднеолеиновости масла
в семенах подсолнечника**

Специальность 06.01.05 – Селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Краснодар 2018

Диссертация выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта» (ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК) в 2012-2018 гг.

Научный руководитель: **Демури Яков Николаевич**,
доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий отделом подсолнечника ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Официальные оппоненты: **Костылев Павел Иванович**,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией селекции, семеноводства и технологии возделывания риса ФГБНУ «АНЦ «Донской»

Давоян Румик Оганесович
доктор биологических наук, заведующий отделом биотехнологии ФГБНУ «НЦЗ им. П. П. Лукьяненко»

Ведущая организация: ФГБУО ВО «Кубанский государственный университет»

Защита состоится _____ на заседании диссертационного совета Д 006.026.01 при ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса» по адресу: 350921, г. Краснодар, пос. Белозерный, 3, тел.: (861)229-41-49.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса» и на сайте – <http://www.vniirice.ru>

Объявление о защите и автореферат размещены на официальном сайте ВАК РФ – <http://www.vak.ed.gov.ru> и ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса» - <http://www.vniirice.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

С.С. Чижикова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Подсолнечник – главная масличная культура в России. В 2017 г. в нашей стране под посевами этой культуры было занято около 80 % площадей всех масличных растений (7,9 млн. га). В последнее десятилетие наблюдается устойчивый рост посевных площадей подсолнечника благодаря стабильно высокому спросу на семена и масло, как на внутреннем, так и на внешнем рынках.

Современные селекционные программы по подсолнечнику ориентированы на получение сортов и гибридов с измененным качеством масла, детерминируемым типом его использования. Возможен отбор необходимых форм как на крайние проявления признака, т.е. минимальное или максимальное значение, так и на сбалансированное содержание веществ. Перспективным направлением в генетике и селекции этой культуры является изучение признака среднеолеиновости и создание гибридов с данным типом масла.

В промышленном производстве существуют три типа подсолнечного масла (по международному стандарту CODEX Stan 210): традиционное (14-39 % олеиновой кислоты), высокоолеиновое (75-91 %) и среднеолеиновое (43-72 %). В данный момент на мировом рынке возрастает спрос на последний тип масла. Среднеолеиновые гибриды (NuSun) занимают 80 % посевных площадей подсолнечника в США. В России главной сложностью коммерческого развития этого направления является инертность маслоперерабатывающей промышленности в создании новой сырьевой базы.

Степень разработанности темы. В 1976 г. во ВНИИМК при использовании метода химического мутагенеза впервые в мире был создан высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец (Солдатов, 1976). Этот сорт был разнородным по составу биотипов со средним содержанием олеиновой кислоты в масле около 70 %. Сорт Первенец стал уникальным источником признака высокоолеиновости в селекции подсолнечника по всему миру. Первоначальные исследования показали, что наследование высокоолеиновости контролируется одним геном *Ol* с полным (Urie, 1984), либо частичным доминированием (Fick, 1984). Последующие работы, однако, показали, что наследование этого признака имеет более сложный тип. Так сообщается о присутствии генов малого действия (Urie, 1985). Miller *et al.* (1987) определили локус *Ml*, который действует как модификатор мутации *Ol*. При изучении наследования признака содержания олеиновой кислоты в поколениях F_1 , F_2 и BC_1 , Fernandez-Martinez *et al.* (1989) обнаружили, что признак высокоолеиновости контролировался тремя доминантными комплементарными генами *Ol₁*, *Ol₂* и *Ol₃*. Во ВНИИМК был описан сложный генетический контроль этого признака в различных комбинациях скрещиваний. В результате проведенного гибридологического анализа установили, что признак высокоолеиновости контролируется одним доминантным геном *Ol* с неполным проявлением в гетерозиготе при наличии нестабильного супрессора,

находящегося в генотипе некоторых нормальных линий (Демури́н, 1999; Demurin *et al.*, 1996; Demurin *et al.*, 2004; Демури́н и др., 2004). Изучению наследования признака среднеолеиновости уделялось гораздо меньше внимания. Во ВНИИМК была предложена гипотеза о том, что признак повышенного содержания олеиновой кислоты у инбредной линии ЛГ27 контролируется рецессивным аллелем *ol*¹. Также обнаружен сильный материнский эффект при скрещивании ЛГ27 с обычной линией (Demurin *et al.*, 2000; Демури́н и др., 2011). Однако систематического изучения наследования признака среднеолеиновости масла не проводилось.

Цель и задачи исследований. Цель работы – изучить закономерности наследования признака среднеолеиновости масла в семенах для научного обеспечения селекции подсолнечника на улучшение качества масла.

В соответствии с поставленной целью были определены следующие задачи:

- изучить признаковую коллекцию линий по содержанию олеиновой кислоты в масле семян подсолнечника;
- провести гибридологический анализ признака среднеолеиновости масла;
- создать рекомбинантные инбредные линии с различным содержанием олеиновой кислоты;
- оценить зависимость содержания олеиновой кислоты в семенах F₂ от генетических формул межлинейных гибридов;
- получить данные об окислительной стабильности среднеолеинового масла.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Генетическая коллекция подсолнечника, состоящая из пяти фенотипических классов по содержанию олеиновой кислоты в масле семян, с созданными рекомбинантными инбредными линиями.

2. Генетический контроль признака среднеолеиновости, включающий материнский эффект в F₁ без материнского наследования в следующих поколениях и аддитивную олигогенную систему.

3. Возможность получения среднеолеинового фенотипа гомозиготным и сегрегационным методами.

4. Повышение устойчивости масла к окислению за счет селекционно-генетического увеличения содержания в нем олеиновой кислоты.

Научная новизна исследований. Впервые для среднеолеиновых линий НА421, НА422 и НА424 обнаружена генотипическая разнородность по содержанию олеиновой кислоты в семенах, включающая гомозиготные высокоолеиновые генотипы и гетерозиготные расщепляющиеся инбредные потомства. Для линий подсолнечника ЛГ27, ВК678 и ЛГ28 установлено наличие положительного осевого градиента содержания олеиновой кислоты в зародыше от геммулы к семядолям. Материнский эффект признака среднеолеиновости линии ЛГ27 в F₁ не приводит к материнскому наследованию в F₂ и F₃. Признак среднеолеиновости масла в семенах этой линии находится под аддитивным олигогенным контролем.

Практическая значимость работы. Генетическая коллекция подсолнечника по содержанию олеиновой кислоты является источником исходного материала для селекции межлинейных гибридов с различным жирно-кислотным профилем масла. Явление осевого градиента по содержанию олеиновой кислоты в семенах должно учитываться при изучении наследования признака жирно-кислотного состава и практической селекции на качество масла с использованием метода половинок семян. Созданные рекомбинантные инбредные линии подсолнечника с различным жирно-кислотным составом могут эффективно использоваться в молекулярно-генетических исследованиях. Для максимального повышения окислительной стабильности среднеолеинового масла следует использовать верхнюю границу содержания олеиновой кислоты около 75 % в масле товарных семян гибридов.

Личный вклад автора состоит в проведении полевых экспериментов и лабораторных анализов, гибридизации, статистической обработке и оформлении результатов исследований.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов, рекомендаций подтверждается необходимым объемом результатов экспериментальных исследований. Вся работа поэтапно выполнена в согласии с обозначенными целью и задачами. Результаты были получены на основании полевых опытов и лабораторных биохимических анализов. Выполнена соответствующая обработка данных с использованием статистических методов. Выводы логично вытекают из полученных результатов.

Апробация результатов.

Основные результаты и выводы диссертационной работы докладывались на ежегодных заседаниях методической комиссии ученого совета ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта» (2013-2016 гг.). Отдельные результаты исследований были доложены на 7-ой международной конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных культур», посвященной 100-летию со дня основания ВНИИМК (г. Краснодар, 2013), всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Инновационные разработки ученых – АПК России» (г. Казань, 2013), 2-ой международной научно-практической конференции молодых ученых, преподавателей, аспирантов, студентов «Инновационные разработки молодых ученых для развития АПК» (г. Краснодар, 2014), международной конференции «Генетические ресурсы растений – основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни» (г. Санкт-Петербург, 2014), Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Научное обеспечение АПК» (г. Краснодар, 2014), VIII международной конференции молодых учёных и специалистов «Конкурентная способность отечественных гибридов, сортов и технологий возделывания масличных культур» (г. Краснодар, 2015), научно-образовательной конференции молодых ученых «Инновационные

биотехнологии в развитии АПК» (г. Краснодар, 2015), IX всероссийской конференции молодых учёных и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных и других технических культур» (г. Краснодар, 2017).

Публикация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе три – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 132 страницах текста в компьютерном исполнении, состоит из введения, 6 глав, выводов, рекомендаций для селекционной и производственной практики, и приложений. Работа иллюстрирована 15 рисунками, 22 таблицами в тексте, 12 таблицами в приложении. Список литературы включает 205 источников, в том числе, 137 иностранных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснованы актуальность темы, цель и задачи исследований, научная новизна и практическая значимость.

Глава 1. Генетические основы селекции подсолнечника на среднеолеиновость (обзор литературы)

В данной главе представлен аналитический обзор существующей на данный момент научной литературы с целью обоснования постановки исследовательской проблемы. Последовательно рассмотрены вопросы о подсолнечнике, как культурном растении, биохимии жирных кислот, генетике и селекции масличных культур на содержание олеиновой кислоты, генетике и селекции подсолнечника на качество масла, окислительной стабильности масла семян подсолнечника, жирно-кислотном профиле масла семян диких видов подсолнечника.

Глава 2. Условия, материал и методы исследования

Исследования проводились в г. Краснодар на центральной экспериментальной базе Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта, в лаборатории генетики отдела подсолнечника в период 2012-2018 гг.

Почвенный покров опытных полей ВНИИМК представлен выщелоченными слабогумусными сверхмощными легкоглинистыми чернозёмами. Содержание гумуса в верхнем горизонте $A_{\text{п}}$ около 3,7-3,8 %, а на глубине 150-200 см – 0,6-1,3 %. Структура почвы в пахотном горизонте – комковатая, в подпахотном – комковато-зернистая.

В соответствии с агроклиматическим районированием Краснодарского края территория опытных полей ВНИИМК находится в третьем

агроклиматическом районе. Район относится к умеренно-влажному, средняя сумма осадков за год – 643 мм, коэффициент увлажнения – 0,3-0,4. За период вегетации подсолнечника выпадает около 370 мм осадков. Среднее годовое количество осадков в период проведения полевых опытов превышало среднюю многолетнюю норму и составило в 2013 – 697 мм, 2014 – 658 мм, 2015 – 797,3 мм.

Средняя годовая температура воздуха составляет +11,3 °С. Сумма положительных температур воздуха достигает 4000-4050 °С. Средняя температура воздуха в течение года в период проведения экспериментов колебалась в пределах 13,3-13,8 °С, что выше климатической нормы на 2-2,5 °С. Одним из важнейших факторов, оказывающих влияние на накопление жирных кислот в подсолнечнике, является температура на налив семян (июль-август). Во все годы исследований среднесуточная температура воздуха в эти месяцы превышала климатическую норму на 0,1-1,9 °С.

Таким образом, агроклиматические условия, сложившиеся в период проведения исследований можно считать удовлетворительными для получения достоверных результатов.

Материал и методы исследования. Всего в работе использовали 118 образцов подсолнечника различного происхождения, в том числе 21 генотип с различным жирно-кислотным профилем.

Исследования проводили с использованием полевых и лабораторных методов. Опытные посевы находились на полях селекционного севооборота ВНИИМК. В период с 2013 по 2015 гг. предшественником подсолнечника была озимая пшеница. Посев подсолнечника на опытных делянках проводили с помощью ручных сажалок по традиционной схеме. В одно гнездо помещали 2-5 семян. Образцы сеяли на 1-4 рядных делянках по 25 гнезд в каждом ряду. После прорывки оставляли одно растение в гнезде при расстановке 70 × 35 см.

Принудительное самоопыление растений и гибридизацию проводили общепринятыми методами. Гибридизация проводилась с использованием ЦМС-форм и ручной кастрации. Ручная кастрация проводилась в утренние часы в течение 4-5 дней цветения корзинки, пыльники раскрывшихся трубчатых цветков удаляли с помощью пинцета.

Для изучения морфологических и фенологических особенностей инбредных линий подсолнечника, различающихся по содержанию олеиновой кислоты в масле семян, в 2013-2014 гг. для каждого генотипа на 10 типичных растениях оценивали высоту, число листьев, диаметр корзинки, наличие ветвления, окраску и форму язычковых цветков. Всего изучали 42 признака по методике проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность сорта, утвержденной Государственной комиссией Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений.

Для получения семянок F₃, семена F₂, после определения жирно-кислотного состава в 1/3 части семяночек, были индивидуально высеяны в

поле. Каждое растение F_2 изолировали, провели самоопыление, зафиксировали дату цветения и морфологические данные.

Анализ жирно-кислотного состава проводили в лаборатории с использованием метода газожидкостной хроматографии метиловых эфиров на приборах Хром-5 и Хроматэк-Кристалл 5000. Обработку хроматограмм выполняли с помощью компьютерной программы Хроматэк Аналитик 2.5. Для изучения осевого градиента анализ состава жирных кислот делали в трехкратной повторности, использовали средние пробы отдельных частей семени (25 штук), навеску 20 г. Для анализа жирно-кислотного профиля брали отдельные очищенные от лузги семена или 1/3 часть семядолей, либо средние пробы (10-50 семян). Оценка оксостабильности выполнена с помощью ранцимат-теста при температуре 120 °С на приборе Rancimat 743.

Значение материнского эффекта и степени доминирования признака среднеолеиновости рассчитывали по формуле, разработанной К. Мазером и Дж. Джинксом (1985), как отношение h/d . Значение наследуемости определяли как квадрат коэффициента корреляции в ряду родитель-потомок (Рокитский, 1978). Статистическую обработку проводили с помощью дисперсионного анализа, входящего в пакет StatSoft 6.0 STATISTICA и анализа данных в программе Excel.

Глава 3. Генетическая коллекция линий подсолнечника с различным составом жирных кислот в масле семян

Изучение признаковой коллекции предполагает полное описание морфологических и фенологических особенностей инбредных линий. Для изучения было отобрано 18 линий подсолнечника, различающихся по содержанию олеиновой кислоты в масле семян.

В генетической коллекции по содержанию олеиновой кислоты имеются линии с высотой от 77 до 167 см (низкорослые – К824, 83HR4, высокорослые – ЛГ27, ЛГ26, РНА345). Число листьев на одном растении колеблется от 20 до 33 шт. (наименее облиственна линия 83HR4, наиболее – линия НА413). Диаметр корзинки наибольший у однокорзиночных линий (от 24 см у линии НА413 до 14 см у линии ВК678), наименьший у ветвистых линий (от 12 см у линии К235 до 17 см у линии RIL100). Величины коэффициента вариации невелики, что свидетельствует о константности линий подсолнечника. Кроме того, на основании описания линий по методике Госсортокмиссии можно сделать вывод о том, что линии генетической коллекции по комплексу морфологических признаков имеют существенные различия.

Оценка селекционноценных показателей семян инбредных линий включала определение масличности, лузжистости, массы 1000 семян. Масличность семян изучаемых линий отличается широким интервалом значений: от 24 в образце К235 до 45 % в селекционных линиях ВК580 и ВК508. Подобный размах значений наблюдали и по лузжистости: от 20 % в

ВК195 до 50 % в К235. Коэффициент корреляции для вышеописанных признаков составляет -0,91, что показывает сильную отрицательную связь между ними. По массе 1000 семян лидирует ЛГ27 (81 г), наименьшая масса в РНА416 (19 г). Кислотное число масла семян всех линий было низким – до 2 мг КОН/г.

Генетическая коллекция подсолнечника по признаку содержания олеиновой кислоты в семенах включает 18 константных линий и делится на пять генетически контролируемых фенотипических классов (табл. 1): низкоолеиновый (22-29 %), обычный (30-40 %), повышеноолеиновый (41-54 %), среднеолеиновый (55-75 %), высокоолеиновый (86-93 %).

Таблица 1 – Жирно-кислотный состав, масличность, лузжистость и масса 1000 семян линий подсолнечника коллекции (ВНИИМК, Краснодар, 2013-2014 гг.)

Генотип	Содержание жирных кислот, %				Масличность, %	Лузжистость, %	Масса 1000 семян, г
	C _{16:0} /C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}			
ВК850	20,7/3,9*	1,6	15,2	58,6	38	27	37
РНА416	6,9	2,2	22,9	68,0	41	28	19
83HR4	7,5	2,8	25,1	64,6	37	28	55
НА413	5,4	3,8	27,7	63,0	36	30	41
ВК580 (St)	5,6	2,9	28,2	63,3	45	26	37
ЛГ28	7,7	1,7	29,3	61,3	32	38	44
RI100	7,0	3,3	31,4	58,2	42	25	38
К824	5,5	5,4	33,5	55,6	33	30	53
К235	7,3	2,4	34,3	55,9	24	50	34
ВК678	5,7	5,1	47,3	41,9	37	27	62
ЛГ27	4,2	3,4	65,9	26,5	31	42	81
ВК876	4,1	5,1	87,9	2,9	37	30	32
ВК195	4,5	2,5	88,0	4,9	44	20	27
ЛГ26	4,7	4,7	88,2	2,4	31	37	56
РНА345	3,5	2,9	89,4	4,2	41	25	30
ВК680	3,4	3,5	90,5	2,6	40	26	40
ВК541	3,6	2,2	90,9	3,3	42	28	49
ВК508	2,7	1,9	93,2	2,3	45	24	39

* - пальмитолеиновая кислота (C_{16:1}), накапливающаяся у линий, содержащих мутацию *p* и составляющая у обычных линий величину не более 0,5 %

Результаты двухлетних исследований содержания олеиновой кислоты в семенах линий РНА416, ВК678, ЛГ27 и ЛГ26 показали, что наибольшую долю влияния в изменчивости этого признака имеет генотип – 0,94 (табл. 2). Условия года и взаимодействие факторов генотип × год влияют также достоверно, но значительно слабее.

Таблица 2 – Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (ВНИИМК, Краснодар, 2013-2014 гг.)

Фактор	SS	df	MS	F	p	Доля влияния фактора
Год	318,97	1	319,0	13,24	0	0,01
Генотип	77339,14	3	25779,7	1070,32	0	0,94
Генотип × Год	799,80	3	266,6	11,07	0	0,02
Внутригрупповой	3661,06	152	24,1	–	–	0,03

SS – сумма квадратов, df – степени свободы, MS – средний квадрат, F – эмпирический критерий Фишера, p – вероятность H_0

Хроматографический анализ содержания 12 жирных кислот в масле семян 100 образцов генколлекции подсолнечника показал, что общее содержание четырех главных, а именно – пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линолевой, составило 96,32 %. Суммарное количество остальных восьми минорных кислот достигло значения 3,68 %. Высокие показатели коэффициента вариации по каждой кислоте от 15 до 84 % указывают на значительные различия между изученными генотипами (табл. 3).

Таблица 3 – Биометрические параметры варьирования жирно-кислотного состава масла в семенах 100 образцов генетической коллекции подсолнечника (ВНИИМК, Краснодар, 2016-2017 гг.)

Жирная кислота		Среднее	Стандартная ошибка	min	max	CV, %
Миристиновая	C _{14:0}	0,06	0,002	0,02	0,1	29
Пальмитиновая	C _{16:0}	6,43	0,094	3,98	9,05	15
Пальмитолеиновая	C _{16:1}	0,12	0,006	0,04	0,37	47
Стеариновая	C _{18:0}	4,52	0,13	1,62	7,5	29
Олеиновая	C _{18:1}	38,05	1,135	16,34	88,66	30
Линолевая	C _{18:2}	47,32	1,071	3,13	68,55	23
Линоленовая	C _{18:3}	0,13	0,011	0,05	0,88	84
Арахидиновая	C _{20:0}	0,36	0,009	0,11	0,6	26
Эйкозеновая	C _{20:1}	0,18	0,007	0,1	0,56	41
Бегеновая	C _{22:0}	1,34	0,041	0,76	2,56	30
Эруковая (изомер)	C _{22:1}	1,2	0,082	0,03	4,75	69
Лигноцериновая	C _{24:0}	0,29	0,006	0,17	0,46	19

Полученные из США среднеолеиновые линии подсолнечника HA421, HA422 и HA424 коллекции USDA были выращены и самоопылены в 2012 г. Семена самоопылённых корзинок этих линий разделились на два типа по среднему значению олеиновой кислоты – высокоолеиновые (87,3 и 91,9 %) без расщепления в отдельных семенах и среднеолеиновые (69,3, 69,4 и 69,6 %) с большой изменчивостью в отдельных семенах от 47,4 до 87,6 %.

В 2013 г. были отдельно высеяны семена из высокоолеиновых константных и из расщепляющихся корзинок в пределах каждого генотипа. Выращенные растения были вновь самоопылены по 5-9 корзинок на делянке.

В 2014 г. отобрали для посева 23 растения, характеризующихся высоким, средним и низким содержанием олеиновой кислоты, для получения инбредных линий различных фенотипических классов по данному признаку. В 2015 г. полученные семена проанализировали на содержание жирных кислот в средних пробах семян. Потомства шести растений I_2 с высоким содержанием олеиновой кислоты также были высокоолеиновыми. В потомстве растений со средним содержанием олеиновой кислоты (70-80 %) имелись растения двух фенотипических классов – высокоолеинового и среднеолеинового. Так, у линии НА424 при самоопылении высокоолеиновых растений I_1 в поколениях I_2 и I_3 получали только высокоолеиновые сублинии. А при самоопылении среднеолеиновых I_1 установили разделение сублиний в I_3 на повышеноолеиновые и среднеолеиновые с содержанием олеиновой кислоты в пределах 48-75 % в средних пробах семян.

Кроме того, проведен анализ отдельных семян самоопыленных корзинок растений со средним содержанием олеиновой кислоты (табл. 4). Потомства девяти растений обладают большой изменчивостью в отдельных семенах от 19,8 до 87,9 % с коэффициентом вариации 14-27 %. В отдельных семенах двух растений наблюдается содержание олеиновой кислоты около 60-87,9 % с коэффициентом вариации 9-11 %.

Следовательно, для линий НА421, НА422 и НА424 обнаружена генотипическая разнородность, связанная с наличием, как гомозиготных высокоолеиновых генотипов, так и гетерозиготных расщепляющихся инбредных потомств. Гомозиготного константного среднеолеинового фенотипа, характерного для линии ЛГ27, в американских линиях не обнаружено.

Изучение жирно-кислотного состава в отдельных частях семени подсолнечника позволило установить наличие, так называемого, осевого градиента содержания олеиновой кислоты, увеличивающегося по направлению от геммулы к дистальному концу семядолей.

Для исследования явления осевого градиента отобрали четыре линии, относящиеся к различным дискретными фенотипическими классам по количеству олеиновой кислоты: низкоолеиновую ЛГ28 (30,6 %), повышеноолеиновую ВК678 (47,3 %) в пределах нормального фенотипа, среднеолеиновую ЛГ27 (67,4 %) и высокоолеиновую ЛГ26 (88,1 %).

Достоверное увеличение количества олеиновой кислоты от геммулы к средней части семядолей отмечено в ЛГ27, ВК678 и ЛГ28 (табл. 5). При этом между средней и дистальной частями указанных линий отличия были не существенными. С другой стороны, линия ЛГ26 не показала достоверных отличий по содержанию олеиновой кислоты в разных частях семени.

Таблица 4 – Среднее содержание олеиновой кислоты (%) в американских линиях подсолнечника НА424 и НА422 при анализе отдельных семян самоопылённых корзинок I₃ (ВНИИМК, Краснодар, 2014 г.)

Генотип	Среднее	Стандартная ошибка	Интервал	min	max	CV, %
НА424, р. 1	52,4	4,56	55,3	19,8	75,1	27
НА424, р. 2	58,2	3,61	42,7	38,9	81,6	20
НА424, р. 3	58,7	3,92	39,9	31,7	71,6	21
НА424, р. 4	51,1	4,16	37,3	35,1	72,4	26
НА424, р. 5	62,5	3,35	39,6	46,2	85,8	17
НА424, р. 6	61,3	2,72	26,5	50,5	77,0	14
НА424, р. 7	78,3	2,82	27,3	60,0	87,3	11
НА424, р. 8	68,0	3,05	29,3	55,4	84,7	14
НА424, р. 9	52,2	3,97	50,9	29,6	80,5	24
НА422, р. 1	64,2	3,71	36,7	48,8	85,5	18
НА422, р. 2	79,3	2,20	19,6	68,3	87,9	9
ЛГ28	29,3	0,92	13,8	23,5	37,3	14
ЛГ27	66,1	0,54	22,5	53,7	76,2	6
ЛГ26	87,9	0,19	2,7	86,5	89,2	1

Таблица 5 – Содержание олеиновой кислоты (%) в различных частях зародыша семени в инбредных линиях подсолнечника (ВНИИМК, Краснодар, 2013 г.)

Генотип	Геммула	Средняя часть семядолей	Дистальная часть семядолей	НСР ₀₅
ЛГ28 (St)	28,7	34,2	30,6	3,7
ВК678	37,6	48,0	50,4	2,9
ЛГ27	52,9	65,9	65,9	4,6
ЛГ26	87,9	86,7	86,5	1,6

Различия в изучаемом градиенте прямо пропорциональны увеличению общего содержания олеиновой кислоты в семенах. В линии ЛГ27 содержание олеиновой кислоты в семядолях возросло на 13 %, в ВК678 – на 12,8 %, а в ЛГ28 – на 5,5 %.

Глава 4. Наследование признака среднеолеиновости линии ЛГ27 генетической коллекции подсолнечника

В полевых условиях 2013 г. получили реципрокные гибриды F₁ от скрещивания ЛГ27 с линиями четырех фенотипических классов по содержанию олеиновой кислоты: низкоолеиновыми РНА416 и ЛГ28, обычной ВК580; повышеноолеиновой ВК678; высокоолеиновыми ЛГ26, ВК508 и РНА345. В 2014 г. повторили реципрокные скрещивания с участием линий РНА416, ВК678 и ЛГ26.

Гибридизация ЛГ27 и РНА416 в F₁ показала достоверное отличие в реципрокных скрещиваниях по количеству олеиновой кислоты на 21,4 %. При этом отклонение реципрокных F₁ было направлено в сторону материнского фенотипа (табл. 6). Наследование исследуемого признака в F₁ характеризуется как промежуточное.

Для реципрокных F₁ от скрещивания ЛГ27 и ВК678 установлена разница по количеству олеиновой кислоты на 5,9 %. Значения F₁ также смещались в сторону материнской линии (табл. 6). Наследование признака среднеолеиновости в F₁ относилось к промежуточному типу.

В реципрокных F₁ от гибридизации ЛГ27 и ЛГ26 наблюдали ожидаемое доминирование мутации *Ol*. Кроме того, при использовании линии ЛГ27 в качестве материнской формы отмечено увеличение количества олеиновой кислоты в F₁ до 90 % (табл. 6).

Таблица 6 – Содержание олеиновой кислоты в масле семян реципрокных F₁ и родительских линий подсолнечника (ВНИИМК, г. Краснодар, 2013-2014 гг.)

Генотип	Содержание олеиновой кислоты, %		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013-2014 гг.
РНА416	22,9	33,4	28,2
F ₁ РНА416 × ЛГ27	33,1	42,9	38,0
F ₁ ЛГ27 × РНА416	56,1	62,6	59,4
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	2,6	3,2	-
ВК678	47,3	48,3	47,8
F ₁ ВК678 × ЛГ27	57,3	54,5	55,9
F ₁ ЛГ27 × ВК678	62,0	61,5	61,8
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	3	3,5	-
ЛГ26	88,2	87,9	88,1
F ₁ ЛГ26 × ЛГ27	85,0	86,5	85,8
F ₁ ЛГ27 × ЛГ26	90,4	89,5	90,0
ЛГ27	66,1	66,1	66,1
НСР ₀₅	1,8	1,1	-

Наличие достоверных различий между показателями реципрокных F₁ говорит о материнском эффекте. Степень материнского эффекта признака среднеолеиновости линии ЛГ27, при оценке через соотношение h/d, изменяется от 0,48 до 0,79 при гибридизации с РНА416 и ВК678 (табл. 7). Это говорит о том, что материнский эффект линии ЛГ27 не полный (< 100 %) и отцовский генотип также имеет значение в наследовании изучаемого признака. Нанесение пыльцы высокоолеиновой ЛГ26 на ЛГ27 вызывает синергизм мутации высокоолеиновости и признака среднеолеиновости (h/d = 1,18), что проявляется в сверхдоминировании, т.е. превышении значения содержания олеиновой кислоты в гибриде F₁ по отношению к родительской линии ЛГ26.

Таблица 7 – Материнский эффект (h/d) в наследовании признака среднеолеиновости в F₁ в подсолнечнике (ВНИИМК, Краснодар, 2013-2014 гг.)

Генотип	h/d		
	2013 г.	2014 г.	среднее за 2013-2014 гг.
F ₁ ЛГ27 × RHA416	0,54	0,79	0,67
F ₁ ЛГ27 × BK678	0,56	0,48	0,52
F ₁ ЛГ27 × ЛГ26	1,20	1,15	1,18

Между реципрокными F₂ при гибридизации ЛГ27 (66 %) с низкоолеиновой RHA416 (33 %) различий в характере расщепления по содержанию олеиновой кислоты в отдельных семенах не наблюдали (рис. 1 и 2). Это свидетельствует об отсутствии материнского наследования признака среднеолеиновости. Кроме того, для обеих комбинаций F₂ ЛГ27 × RHA416 и RHA416 × ЛГ27 отмечено появление семян в низкоолеиновых фенотипических классах от 10 до 20 %, отсутствующих у родителей, что говорит об отрицательной трансгрессии. Положительной трансгрессии не обнаружено. Однопиковое распределение показателей семян F₂, а также средние значения 52 и 49 % для комбинаций RHA416 × ЛГ27 и ЛГ27 × RHA416, соответственно, совпадающие со среднеродительским 50 % олеиновой кислоты, указывают на аддитивный характер наследования признака.

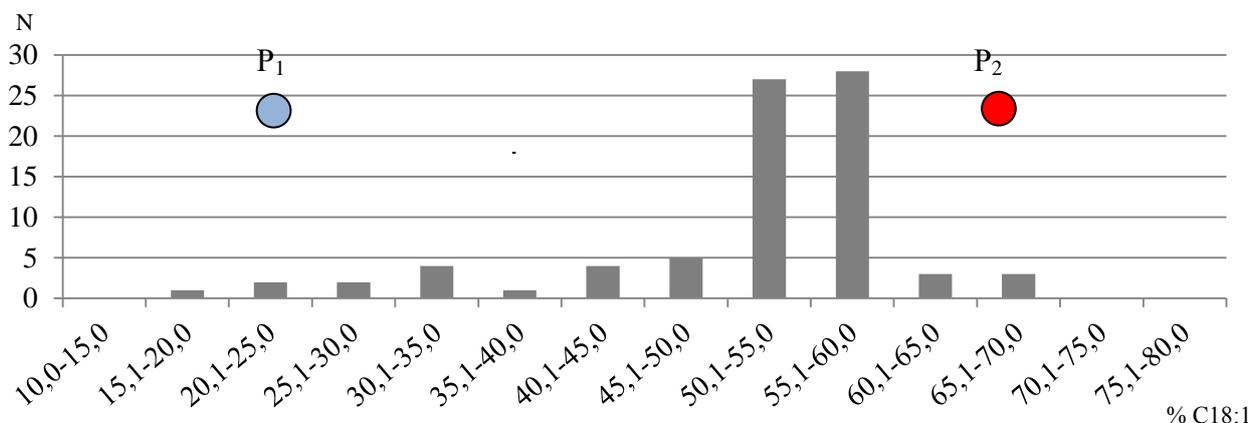


Рисунок 1 – Наследование в F₂ RHA416 × ЛГ27 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

Реципрокные F₂ от скрещивания среднеолеиновой ЛГ27 с повышеноолеиновой BK678 (48 %) имели сходный характер наследования признака (рис. 3 и 4). Это также говорит об отсутствии материнского наследования среднеолеиновости. В комбинации ЛГ27 × BK678 наблюдали отрицательную трансгрессию до содержания C_{18:1} 30-35 %. Однопиковое распределение значений F₂, а также средние 61 и 57 % для комбинаций BK678 × ЛГ27 и ЛГ27 × BK678, соответственно, совпадающие со среднеродительским 57 % олеиновой кислоты, также свидетельствуют об аддитивном эффекте.

Кроме того, появление в F₂ семян со среднеолеиновым родительским фенотипом при объеме выборке 80 шт. говорит об олигогенном контроле признака.

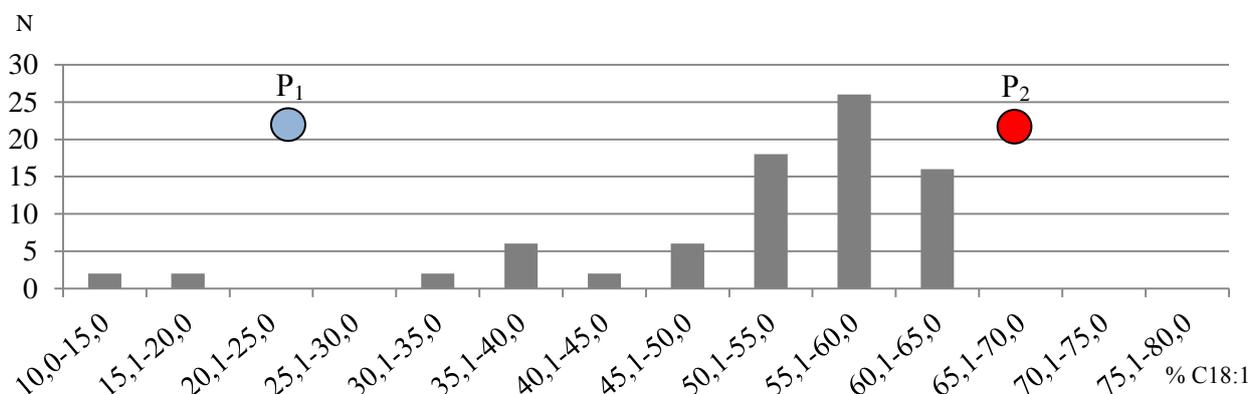


Рисунок 2 – Наследование в F₂ ЛГ27 × RNA416 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

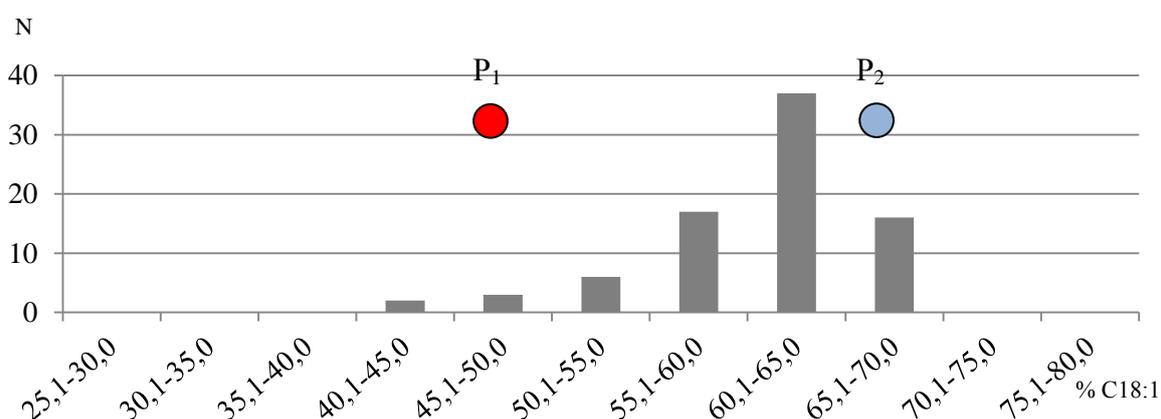


Рисунок 3 – Наследование в F₂ BK678 × ЛГ27 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

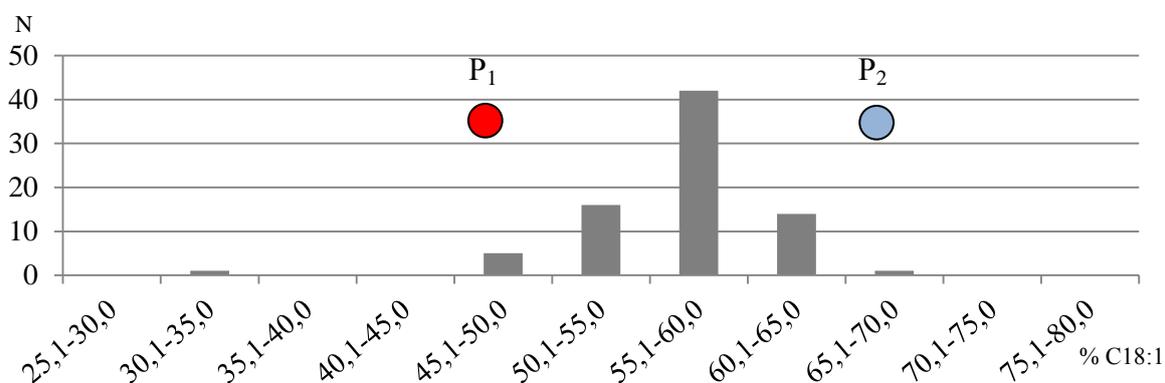


Рисунок 4 – Наследование в F₂ ЛГ27 × BK678 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

В рецiproкных скрещиваниях F₂ ЛГ27 и ЛГ26 (88 %) наблюдали однотипные расщепления на два дискретных фенотипических класса – среднеолеиновый и высокоолеиновый (рис. 5 и 6). В комбинации F₂ ЛГ26 × ЛГ27 расщепление достоверно соответствует соотношению 3:1 ($\chi^2 = 0,07$), т.е. наследованию доминантной мутации *Ol*. Во второй комбинации F₂ ЛГ27 × ЛГ26 отмечена нехватка семян в высокоолеиновом классе. В F₂ ЛГ26 × ЛГ27 наблюдали отрицательную трансгрессию до содержания C_{18:1} 40-45 %. В обоих F₂ присутствует сверхдоминирование признака с коэффициентом h/d=1,2, что выражается в положительной трансгрессии с появлением семян в т.н. супер-высокоолеиновом фенотипическом классе от 90 до 95 %. Это связано, вероятно, с рекомбинационным объединением в F₂ генов высокоолеиновости и среднеолеиновости.

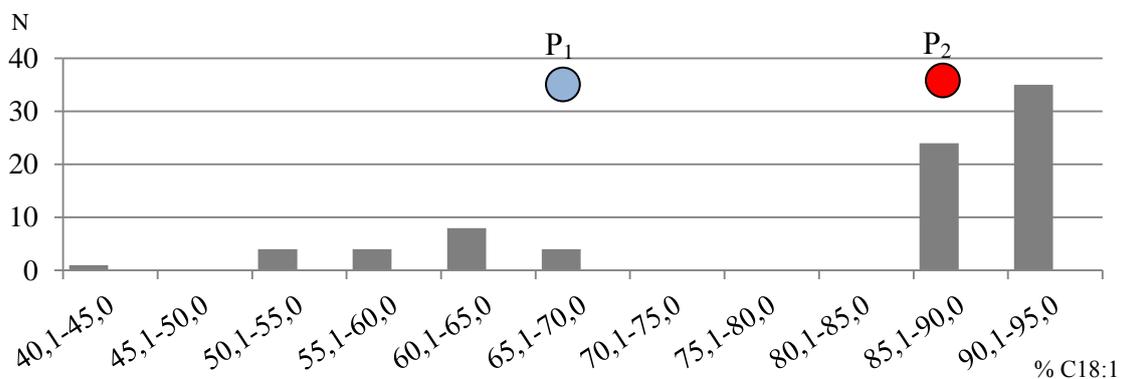


Рисунок 5 – Наследование в F₂ ЛГ26 × ЛГ27 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

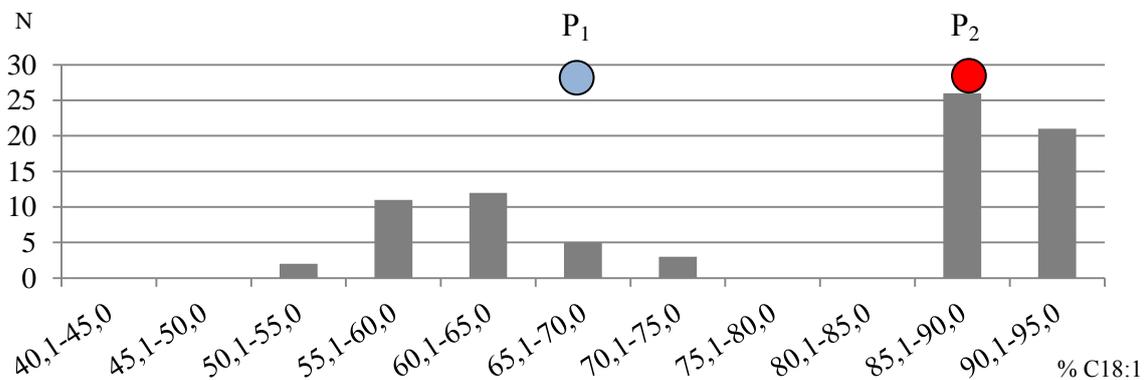


Рисунок 6 – Наследование в F₂ ЛГ27 × ЛГ26 содержания олеиновой кислоты в отдельных семенах подсолнечника (N = 80), 2014 г.

Хроматографический анализ жирно-кислотного профиля семян F₃ от рецiproкных скрещиваний среднеолеиновой ЛГ27 с тремя линиями разных фенотипических классов показал, что в семенах F₃ от скрещивания с низкоолеиновой линией ЛГ28 наблюдается континуальное распределение, без четкого разделения на два фенотипических класса с размахом варьирования около 27-30 % (табл. 8). В семенах F₃ от скрещивания с линией ВК678 отмечен

аналогичный характер распределения с интервалом 19-27 %. В реципрокных F_3 от скрещивания ЛГ27 с высокоолеиновой ЛГ26 также зафиксирована изменчивость без четкого разделения на фенотипические классы. При этом в F_3 ЛГ27 × ЛГ26 появляются семена с содержанием олеиновой кислоты 50-55 %, что существенно ниже, чем у линии ЛГ27 (отрицательная трансгрессия). С другой стороны, как и в семенах F_2 отмечено появление супервысокоолеинового фенотипического класса от 90 до 95 % (положительная трансгрессия).

Таблица 8 – Содержание олеиновой кислоты (%) в семенах подсолнечника F_3 (самоопыленные корзинки растений F_2) (ВНИИМК, Краснодар, урожай 2014 г.)

Генотип	Среднее	R	min	max	n
F_3 ЛГ27 × ЛГ28	46,5	30,4	34,9	65,3	33
F_3 ЛГ28 × ЛГ27	48,5	27,6	33,7	61,3	29
F_3 ЛГ27 × ВК678	56,6	19,0	44,8	63,8	31
F_3 ВК678 × ЛГ27	53,8	27,4	39,7	67,1	27
F_3 ЛГ27 × ЛГ26	78,3	39,6	51,2	90,8	24
F_3 ЛГ26 × ЛГ27	78,0	29,6	63,1	92,7	22

НСР₀₅ 4,6

Сопоставление значений признака в отдельных семенах F_2 и самоопыленном потомстве F_3 позволило провести оценку наследуемости на основе корреляции в ряду родитель-потомок. В скрещиваниях ЛГ27 с низкоолеиновой ЛГ28 и с обычной ВК678 коэффициент корреляции содержания олеиновой кислоты $r_{F_2-F_3}$ варьировал от недостоверных значений до средней положительной величины 0,54. При гибридизации с высокоолеиновой линией ЛГ26 коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$ принимал только высокие положительные значения до 0,88, что обусловлено, вероятно, значительным влиянием мутации высокоолеиновости *Ol* (табл. 9). Коэффициент наследуемости (в узком смысле слова) h^2 , оценивающий долю аддитивной генотипической изменчивости в общей фенотипической, составил от 0,07 до 0,77.

Таблица 9 – Корреляция содержания олеиновой кислоты в ряду родитель-потомок (F_2 - F_3) у подсолнечника (ВНИИМК, Краснодар, 2013-2014 г.)

Скрещивание	Коэффициент корреляции $r_{F_2-F_3}$	Коэффициент детерминации (наследуемости) $d (h^2)$
ЛГ27 × ЛГ28	- 0,02	-
ЛГ28 × ЛГ27	0,54*	0,29
ЛГ27 × ВК678	0,26*	0,07
ВК678 × ЛГ27	- 0,10	-
ЛГ27 × ЛГ26	0,88*	0,77
ЛГ26 × ЛГ27	0,78*	0,61

* - достоверно на 5 % уровне значимости

Таким образом, наследование признака среднеолеиновости линии ЛГ27 в F₂-F₃ характеризуется аддитивным олигогенным контролем, наличием положительной и отрицательной трансгрессии, отсутствием материнского наследования.

Для получения рекомбинантных инбредных линий с различным количеством олеиновой кислоты в масле семян проводили дальнейшее самоопыление и дизруптивный отбор. В 2015 г. высеяли семена семей F₃ с минимальным и максимальным проявлением признака. На каждой делянке самоопыляли по пять растений. Семена поколения F₄ сеяли без проведения анализов. В 2016 г. отобрали 145 образцов поколения F₅ (линии I₄) от реципрокных скрещиваний (табл. 10).

Таблица 10 – Схема получения рекомбинантных инбредных линий подсолнечника с различным содержанием олеиновой кислоты в масле семян (ВНИИМК, Краснодар, урожай 2012-2016 гг., анализы 2013-2018 гг.)

Год	2012	2013	2014	2015	2016													
Поколение	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅													
	Содержание олеиновой кислоты, %																	
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													

В поколении I₃ от скрещивания ЛГ28 и ЛГ27 выделили 46 линий с содержанием олеиновой кислоты в пределах 29,8-56,9 % (табл. 10). Из них 14 вошли в обычный (30-40 % C_{18:1}), 31 – в повышеноолеиновый (41-54 % C_{18:1}), одна линия – в среднеолеиновый фенотипический класс.

Рекомбинантные линии от рецiproкных скрещиваний линий ЛГ27 и ВК678 содержали в среднем около 50 % олеиновой кислоты (табл. 10). Из них пять линий относились к обычному классу (30-40 % $C_{18:1}$), 35 – к повышенноолеиновому (41-54 % $C_{18:1}$), 17 – к среднеолеиновому (55-77 % $C_{18:1}$).

В поколении I_3 от гибридизации ЛГ27 и ЛГ26 рекомбинантные линии имели большой интервал варьирования в 53 % по содержанию изучаемого признака (табл. 10). Эти линии вошли в четыре фенотипических класса: две – в обычный (30-40 % $C_{18:1}$), 13 – в повышенноолеиновый (41-54 % $C_{18:1}$), 10 – в среднеолеиновый (55-77 % $C_{18:1}$) и 11 – в высокоолеиновый класс (86-90 % $C_{18:1}$). Из них шесть линий являлись супер-высокоолеиновыми (> 90 % $C_{18:1}$).

Следовательно, созданные рекомбинантные инбредные линии F_5 охватывают широкий интервал значений содержания олеиновой кислоты от 30 до 92 % в масле семян подсолнечника, являются ценным материалом для дальнейших исследований, включая молекулярно-генетические подходы.

Глава 5. Характеристика межлинейных гибридов подсолнечника с различным содержанием олеиновой кислоты

Для получения экспериментальных гибридов F_1 в полевых условиях в качестве родительских форм использовали селекционные и коллекционные линии, различающиеся по содержанию олеиновой кислоты в масле семян. Материнские формы: низкоолеиновые (РНА416, НА413, ЛГ28), обычные (ВК580, ВА93А, ВК678А), среднеолеиновая (ЛГ27), высокоолеиновые (ВК680А, ВК876А, ЛГ26, ВК508, РНА345). Отцовские формы: низкоолеиновые (ЛГ28, РНА416), обычные (ВК580, ВК678), среднеолеиновая (ЛГ27), высокоолеиновые (ЛГ26, ВК508, РНА345). Для гибридизации использовали как ручную кастрацию, так и ЦМС (А)-формы линий. Полученные семена F_1 в 2014 г. высеяли для проведения группового переопыления и получения семян F_2 .

На основании данных анализа жирно-кислотного профиля средних проб семян F_2 можно сделать вывод о том, что подбирая пары линий для скрещиваний, можно получать гибриды с содержанием олеиновой кислоты от 30 до 92 % в товарных семенах.

Все гибриды среднеолеиновой ЛГ27 с низкоолеиновыми линиями продуцировали масло в широком интервале содержания $C_{18:1}$ 30,0-54,9 %.

Восемь гибридов со среднеолеиновым профилем масла семян (61,4-78,5 % $C_{18:1}$) получены в результате скрещивания обычных и высокоолеиновых линий, т.е. за счет расщепления в F_2 по гену *Ol*. Использование линии ЛГ27 позволяет получать среднеолеиновый (58,6 %) гибрид только с линией ВК678 с повышенным содержанием олеиновой кислоты. Однако такой гибрид находится на нижней границе среднеолеинового фенотипического класса и при низких температурах на налив семян не позволит получить достаточное количество олеиновой кислоты.

Скрещивание среднеолеиновой ЛГ27 с высокоолеиновыми линиями приводит к получению в семенах гибридов масла с необычным количеством $C_{18:1}$ 80,7-85,4 %, т.е. по нижней границе высокоолеинового фенотипического класса. Как и следовало ожидать, скрещивание высокоолеиновых линий между собой дает гомозиготные высокоолеиновые гибриды с содержанием $C_{18:1}$, например в F_2 ВК680А01 × ВК50801 (гибрид Гермес), до 91,5 %.

Таким образом, получение среднеолеинового масла в товарных семенах подсолнечника может эффективно достигаться сегрегационным способом, т.е. при использовании одного высокоолеинового родительского компонента гибрида, как материнской, так и отцовской формы.

Глава 6. Окислительная стабильность среднеолеинового масла семян подсолнечника

Для изучения стойкости к окислению были отобраны четыре образца масел с содержанием олеиновой кислоты от 35 % у контрольного образца линолевого гибрида до 59, 69 и 73 % в гибридных семенах с различной степенью переопыления обычного и высокоолеинового генотипов.

С увеличением содержания олеиновой кислоты «время жизни» масла, т.е. периода без признаков окисления, сильно изменилось. Так, традиционное подсолнечное масло содержащее около 35 % олеиновой кислоты имеет индукционный период 2 ч 35 мин, 59 % – 4 ч 58 мин, 69 % – 7 ч 14 мин и 73 % – 9 ч 44 мин.

Таким образом, масло с минимальным значением содержания олеиновой кислоты в пределах среднеолеинового класса имеет окислительную стабильность в два раза выше, чем в традиционном подсолнечном масле, а с максимальным значением содержания олеиновой кислоты в пределах среднеолеинового класса имеет окислительную стабильность в четыре раза выше. Селекционный признак среднеолеиновости (mid-oleic) около 70 % $C_{18:1}$ в семенах подсолнечника приводит к значительному улучшению технологического параметра масла – его окислительной стабильности при сохранении достаточного содержания эссенциальной линолевой кислоты $C_{18:2}$ около 20 %. Поэтому среднеолеиновое масло целесообразно использовать в пищевых целях при повышенных требованиях к окислению (жарка, хранение).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Линии генетической коллекции подсолнечника по жирно-кислотному составу существенно различаются по морфологическим признакам. Высота растений варьирует от 77 до 167 см (низкорослые – К824, 83HR4; высокорослые – ЛГ27, ЛГ26). Число листьев на растении изменяется от 20 до 33 штук. Диаметр корзинки наименьший в ветвистых линиях от 12 см, наибольший в однокорзинчатых генотипах до 24 см.

2. Содержание олеиновой кислоты в масле семян образцов коллекции подсолнечника находится в широком интервале 15-93 %. При этом масличность варьировала 24-45 %, лузжистость 20-50 % и масса 1000 семян 19-81 г.
3. Коллекция подсолнечника по признаку содержания олеиновой кислоты в масле семян состоит из пяти генетически контролируемых фенотипических классов: низкоолеинового (22-29 %), обычного (30-40 %), повышеноолеинового (41-54 %), среднеолеинового (55-75 %) и высокоолеинового (86-93 %). Среднеолеиновый класс включает одну линию ЛГ27, не имеющую мутацию высокоолеиновости.
4. Для среднеолеиновых линий подсолнечника НА421, НА422 и НА424 характерна генотипическая разнородность по содержанию олеиновой кислоты в семенах, связанная с наличием, как гомозиготных высокоолеиновых генотипов, так и гетерозиготных расщепляющихся инбредных потомств. Гомозиготного константного среднеолеинового фенотипа, характерного для ЛГ27, у этих линий не обнаружено.
5. Для линий подсолнечника ЛГ28, ВК678, ЛГ27 установлено явление положительного осевого градиента в содержании олеиновой кислоты у зародыша семени от геммулы к семядолям. В линии ЛГ27 наблюдалось увеличение содержания олеиновой кислоты к дистальному концу семени на 13 %, в ВК678 – на 12,8 %, в ЛГ28 – на 5,5 %. Высокоолеиновая линия ЛГ26 достоверных отличий в частях семени не показала.
6. Наследование в F_1 признака среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27 от скрещивания с низкоолеиновой РНА416 и повышеноолеиновой ВК678 характеризуется промежуточным типом. Достоверные различия в реципрокных комбинациях F_1 указывают на сильный материнский эффект. От гибридизации линии ЛГ27 и ЛГ26 в F_1 наблюдается явление сверхдоминирования.
7. Наследование в F_2 признака среднеолеиновости масла семян линии ЛГ27 от скрещивания с низкоолеиновой РНА416 и повышеноолеиновой ВК678 относится к аддитивному олигогенному контролю с континуальным однопиковым распределением значений и отрицательной трансгрессией. Различий в реципрокных F_2 не обнаружено, что указывает на отсутствие материнского наследования.
8. В реципрокных скрещиваниях F_2 среднеолеиновой ЛГ27 и высокоолеиновой ЛГ26 наблюдали однотипное моногенное расщепление с участием доминантной мутации *Ol* на два дискретных фенотипических класса – среднеолеиновый и высокоолеиновый с положительной трансгрессией в фенотип 90-95 %.
9. Коэффициент наследуемости содержания олеиновой кислоты (в узком смысле слова) h^2 , оценивающий долю аддитивной генотипической изменчивости в общей фенотипической, рассчитанный на основе корреляции в ряду родитель-потомок F_{2-3} , составил 0,07 и 0,77.

10. Созданные 145 рекомбинантных инбредных линий F_5 охватывают широкий интервал значений содержания олеиновой кислоты от 30 до 92 %. Двадцать восемь линий относятся к среднеолеиновым. Корреляция содержания олеиновой кислоты с признаками длины семянки, длины ядра семени, линейного показателя пустоты внутри семянки и лузжистости не обнаружена.
11. На основе подбора пар родительских линий создано 27 экспериментальных гибридов с содержанием олеиновой кислоты от 30 до 92 % в товарных семенах F_2 . Восемь гибридов со среднеолеиновым профилем масла семян 61-79 % получены в результате скрещивания обычных и высокоолеиновых линий за счет расщепления по мутации *Ol*.
12. Среднеолеиновое масло с минимальным значением содержания олеиновой кислоты в пределах класса имеет окислительную стабильность в два раза выше (4 ч 58 мин), чем в традиционном подсолнечном масле, а с максимальным значением содержания олеиновой кислоты – в четыре раза (9 ч 44 мин).

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОЙ И ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ ПРАКТИКИ

Генетическая коллекция подсолнечника по содержанию олеиновой кислоты является источником исходного материала для селекции межлинейных гибридов с различным жирно-кислотным профилем масла. Явление осевого градиента по содержанию олеиновой кислоты в семенах подсолнечника должно учитываться при изучении наследования признака жирно-кислотного состава и практической селекции на качество масла с использованием метода половинок семян. Созданные рекомбинантные инбредные линии подсолнечника с различным жирно-кислотным составом могут эффективно использоваться в молекулярно-генетических исследованиях. Для максимального повышения окислительной стабильности среднеолеинового масла следует использовать верхнюю границу содержания олеиновой кислоты около 75 % в масле товарных семян гибридов подсолнечника.

Благодарности

Работа частично выполнена в рамках проекта «Разработка технологии ускоренной селекции масличных культур на основе высокопроизводительных методов генотипирования и молекулярного фенотипирования для обеспечения продовольственной безопасности России» по Соглашению между Сколковским Институтом науки и технологий и Министерством образования и науки РФ №14.609.21.0099 от «3» октября 2016 г.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

I. Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Демури́н, Я.Н. Осевой градиент содержания олеиновой кислоты в частях семени подсолнечника / Я.Н. Демури́н, О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Масличные культуры. Науч.-техн. бюлл. ВНИИМК. – Краснодар, 2014. – Вып.1 (157–158) – С. 7-10.
2. Демури́н, Я.Н. Материнский эффект в наследовании признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов первого поколения / Я.Н. Демури́н, О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Масличные культуры. Науч.-техн. бюлл. ВНИИМК. – Краснодар, 2016. – Вып.1 (165) – С. 16-21.
3. Демури́н, Я.Н. Наследование признака среднеолеиновости масла в семенах подсолнечника у гибридов второго и третьего поколений / Я.Н. Демури́н, О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Масличные культуры. Науч.-техн. бюлл. ВНИИМК. – Краснодар, 2018. – Вып.3 (175) – С. 3-8.

II. Статьи в аналитических сборниках и материалах конференций:

4. Борисенко, О.М. Наследование признака среднеолеиновости масла семян подсолнечника у линии ЛГ27 / О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Сб. 7-й междунар. конф. молодых учёных и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных культур», посв. 100-летию со дня основания ВНИИМК (19-21 февраля). – Краснодар, 2013. – С 32-34.
5. Борисенко, О.М. Среднеолеиновая линия подсолнечника ЛГ27 / О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Материалы всерос. науч.-практич. конф. молодых ученых «Инновационные разработки ученых – АПК России», посв. памяти Р.Г. Гареева (18-20 марта). – Казань, 2013. – С. 76-78.
6. **Чебанова, Ю.В.** Генетическая коллекция подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) по жирно-кислотному составу масла семян / Ю.В. Чебанова // Материалы X всерос. науч. конф. «Современное состояние и приоритеты развития фундаментальных наук в регионах» (7-11 октября). – Анапа, 2013. – С. 22.
7. Демури́н, Я.Н. Генетическая коллекция в современных направлениях селекции подсолнечника / Я. Н. Демури́н, А. С. Тронин, **Ю. В. Чебанова** // Тезисы докл. междунар. конф. «Генетические ресурсы растений – основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни» (6–8 октября). – Санкт-Петербург, 2014. – С. 55.
8. **Чебанова, Ю.В.** Лонгитюдная гетерогенность содержания олеиновой кислоты в отдельном семени подсолнечника / Ю.В. Чебанова // Сб. 2-ой междунар. науч.-практич. конф. молодых ученых, преподавателей,

аспирантов, студентов «Инновационные разработки молодых ученых для развития АПК» (6-8 августа). – Краснодар, 2014. – С. 45-46.

9. **Чебанова, Ю. В.** Материнский эффект признака среднеолеиновости масла у гибридных семян подсолнечника / Ю.В. Чебанова // Материалы VIII-й Всерос. науч.-практич. конф. молодых ученых «Научное обеспечение АПК» (2-4 декабря). – Краснодар, 2014. – С. 183-184.

10. Борисенко, О.М. Морфологические и биохимические характеристики линий подсолнечника с различным составом жирных кислот / О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Материалы VIII междунар. конф. молодых учёных и специалистов «Конкурентная способность отечественных гибридов, сортов и технологий возделывания масличных культур» (19-20 февраля). – Краснодар, 2015. – С. 40-44.

11. Борисенко, О.М. Генетические основы селекции гибридов подсолнечника с маслом специального назначения / О.М. Борисенко, **Ю.В. Чебанова** // Молодой ученый. – 2015. – №9-2(89). – С. 100-102.

12. **Чебанова, Ю.В.** Гетерогенность среднеолеиновых линий подсолнечника НА421, НА422 И НА424 по содержанию олеиновой кислоты в масле семян / Ю.В. Чебанова, О.М. Борисенко // Сб. IX всерос. конф. с международным участием молодых учёных и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных и других технических культур» (21-22 февраля). – Краснодар, 2017. – С. 157-160.