

УДК 633.854.54:631.524.84

С. И. Вакула, мл. науч. сотрудник (ИГиЦ НАН Беларуси); Н. В. Анисимова, науч. сотрудник (ИГиЦ НАН Беларуси); З. Е. Грушецкая, науч. сотрудник (ИГиЦ НАН Беларуси); В. Н. Леонтьев, доцент (БГТУ); В. В. Титок, директор (ЦБС НАН Беларуси)

БИОСИНТЕЗ α -ЛИНОЛЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В СЕМЕНАХ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЙ АСПЕКТЫ

Два типа льна: технический и пищевой различаются по содержанию α -линоленовой кислоты (АЛК) в масле семян. Два независимых гена LuFad3A и LuFad3B кодируют изоформы фермента микросомальной ω -3 десатуразы, окисляющего линолеовую кислоту до АЛК. Для различения технического и пищевого льна мы использовали кодоминантные ДНК маркеры к генам LuFad3A и LuFad3B. Выявлена изменчивость жирнокислотного состава семени льна в зависимости от условий выращивания. Более низкие среднесуточные температуры (17–18°C) в период налива семян способствуют накоплению масла и увеличению концентрации ненасыщенных жирных кислот. Таким образом, на синтез α -линоленовой кислоты в семени льна влияют как генетические, так и средовые факторы.

Two types of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.): industrial oil flax and edible oil or solin flax differ markedly in seed linolenic acid levels. Two independently inherited genes LuFad3A and LuFad3B control the linolenic-acid trait in flax, that genes encode microsomal desaturases capable of desaturating linoleic acid. We use codominant DNA markers to distinguish between null and wild-type alleles of both genes in estimation of breeding material and marker assisted selection of flaxseed. An estimation of influence of agro-climatic conditions on flaxseed biochemical composition revealed variability of fatty acid contents. Temperate humidity and environmental temperature (17–18°C) during seeds formation leads to increasing in the lipids contents and to nonsaturated fatty acids impoverishment in flax oil. Both genetic and ecological factors affect on the rate of linoleic acid desaturation.

Введение. Липиды, составляющие масла и жиры, – это неотъемлемый компонент любой клетки. На 1 см² поверхности листа приходится 0,2 мг липидов, это 5–10% сухого веса клетки [1]. Некоторые растительные ткани накапливают значительно большее количество липидов. Масло – основная форма запасания энергии и углерода в семенах многих видов, концентрация липидов в клетках эндосперма и семядолей может достигать 60%. Эпидермальные клетки вырабатывают покрывающие поверхность растения кутикулярные липиды, препятствующие обезвоживанию растения, проникновению патогенов и смягчающие воздействие других стрессовых факторов среды. Липиды являются предшественниками растительного гормона жасмоновой кислоты, липопротеинов и гликолипидов клеточных мембран [1, 2].

Класс веществ, называемый «липиды», определяют либо как группу органических соединений, хорошо растворимых в неполярных органических растворителях (бензол, ацетон, хлороформ) и практически нерастворимых в воде, либо как жирные кислоты (ЖК) и их производные, как по радикалу, так и по карбоксильной группе [3]. Жирные или алифатические кислоты – многочисленная группа неразветвленных одноосновных карбоновых кислот с открытой цепью. Знание химической структуры ЖК, их физических, химических и биологических свойств – это основа понимания физики, химии и биохимии липидов [1, 4].

Известно, что 90% состава всех ацилглицеридов растительной клетки, то есть практиче-

ски всех мембран, и запасные липиды клетки образованы пятью «главными» ЖК (стеариновая 18 : 0, олеиновая 18 : 1, линолевая 18 : 2, α -линоленовая АЛК или 18 : 3, пальмитиновая 16 : 0 и у некоторых видов гексадекатриеновая 16 : 3). Молекулы этих кислот представлены цепью из 16 или 18 атомов углерода и содержат 1–3 ненасыщенные связи [1]. ЖК – это продукты углеводного и жирового обмена клетки. Их биосинтез – это первичный метаболический процесс, т. к. он происходит в каждой клетке и незаменим для роста и развития организма. Ингибиторы биосинтеза ЖК для клеток летальны, не получено ни одного растения, несущего мутацию, блокирующую эти клеточные процессы.

Хотя ЖК входят в состав всех клеточных мембран и кутикулярного воска, основным местом их синтеза являются пластиды [1, 5]. Процесс формирования ЖК в пластидах обычно заканчивается образованием цепей 16 : 0 и 18 : 0. Источником атомов углерода для молекул является пул ацетил-КоА. В процессах биосинтеза участвуют ферменты ацетил-КоА-карбоксилаза, многокомпонентная синтаза жирных кислот, ацил-переносящий белок (АПБ), молекулы АТФ и НАДФ (рис. 1). Например, на синтез пальмитиновой кислоты затрачивается 7 молекул АТФ и 14 НАДФ [5]. Десатурация, или формирование в молекуле ЖК двойных ненасыщенных связей, происходит на мембранах либо пластид, либо эндоплазматического ретикулума. Десатурация – важнейшая реакция, необходимая для поддержания физиологических свойств мембранных липидов.

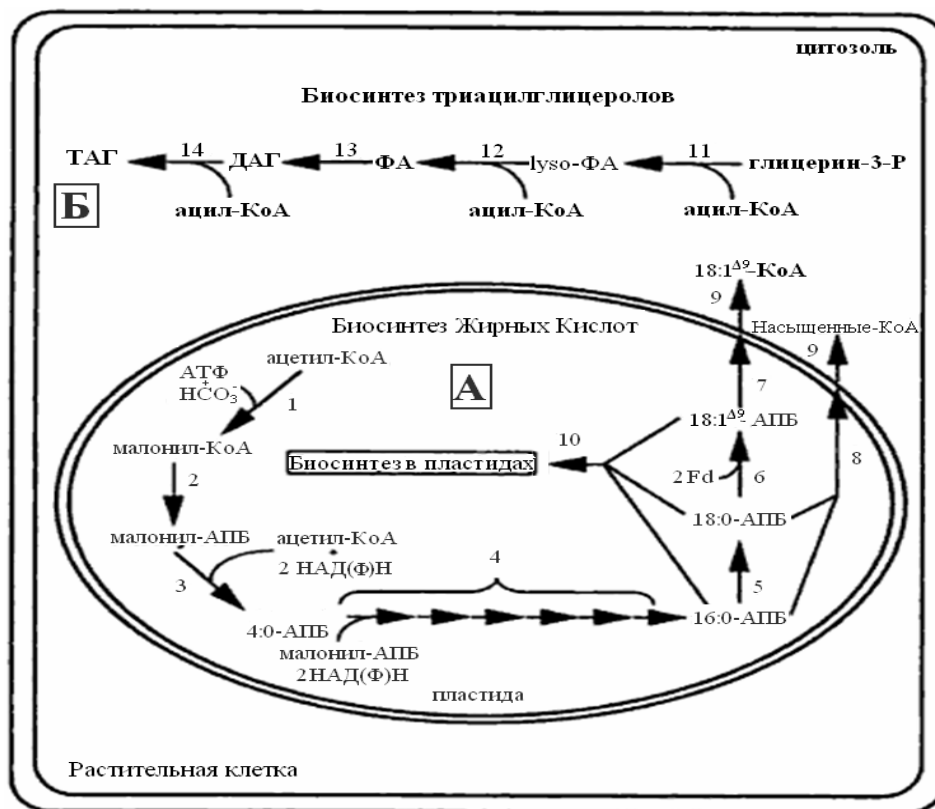


Рис. 1. Схема биосинтеза растительных масел (по Denis J. Murphy, 2005)

Образование определенного количества двойных связей в молекуле ЖК снижает температуру перехода из фазы геля (твердая фаза) в жидкокристаллическую фазу и придает мембранам необходимую степень текучести [6, 7]. Десатуразы ЖК – интегральные мембранные металлоферменты (Fe в негеминовой форме), терминальный компонент в сложной цепи биохимических реакций, включающих в качестве доноров электронов цитохром b или ферредоксин, а также, соответственно, цитохром b₅-редуктазу [8, 9] или ферредоксин-НАДФ⁺-оксидоредуктазу [10, 11]. Номенклатура десатураз основана на топологии формируемой двойной связи. Дельта (Δ) показывает, что двойная связь формируется в фиксированной позиции относительно карбоксильной группы жирной кислоты (например, Δ⁹ десатураза формирует двойную связь в 9-й позиции от карбоксильной группы). Омега (ω) означает порядок формирования двойной связи от метильного конца. Реакции, катализируемые десатуразами ЖК, стерео-, регионо- и хемоспецифичны. Например, для организма человека линолевая (18 : 2) и α-линоленовая (18 : 3) ЖК являются эссенциальными или незаменимыми, т. к. в клетках отсутствуют необходимые для их синтеза Δ¹² и Δ¹⁵ десатуразы [7, 12].

Использование традиционных биохимических методов для изучения десатураз затрудне-

но сложностью процессов растворения и выделения ферментов из мембран [13]. У арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) описано 7 мутантов, дефицитных по одной из стадий процесса десатурации ЖК [14, 15]. Две мутации затрагивают процессы окисления экстрахлоропластных липидов, а 5 локусов ответственны за процессы, происходящие в хлоропластах. Позже были идентифицированы два гена пластидных десатураз Fad7 и Fad8 [16, 17], окисляющие 16 : 2 и 18 : 2, и один митохондриальный Fad3 [18], который действует только на 18 : 2. Уровень «ненасыщенности» масла семян определяется главным образом работой митохондриальных десатураз, например, у Fad3 мутантных линий арабидопсиса уровень 18 : 3 снизился с 20% (общее содержание ЖК в семени дикого типа) до 1–2% [19, 20]; тогда как в листьях концентрация 18 : 3 снизилась незначительно [20, 21]. Жирнокислотный состав семени льна (*Linum usitatissimum* L.) уникален. Содержание α-линоленовой кислоты в масле некоторых сортов составляет более 55% [22]. Это частично обусловлено присутствием у льна двух генов ω³ десатураз, кодирующих очень сходные ферменты, способные к десатурированию линолевой кислоты. Указанные гены обладают аддитивным эффектом, и линии, несущие мутацию, блокирующую биосинтез в отдельном гене, имеют промежуточные уровни АЛК [23, 24].

Используя мутагенез этилметилсульфонатом (EMS) [24], были получены мутантные линии, содержащие менее 2% АЛК в масле семян, тогда как у исходного генотипа McGregor уровень АЛК достигал 49%. Низколиноленовые гибриды ($\approx 2\%$ АЛК) были получены при рекомбинации двух EMS-мутантов, содержащих около 30% линоленовой кислоты [23, 25]. Во всех описанных случаях жирнокислотный состав листьев оставался неизменным [26]. Содержание АЛК в масле льна контролируется двумя независимыми генами *Fad3/ω3* микросомальных десатураз [24]. Нуклеотидные последовательности диких и SNP-мутантных аллелей генов *Fad3A* и *Fad3B* идентифицированы, депонированы в генбанке [27]. Исследование молекулярных и физиологических механизмов накопления высокой/низкой концентрации АЛК в масле семян позволит манипулировать композицией льняного масла, создавая сорта пищевого или технического назначения, расширять возможности коммерческого использования льняного масла.

Основная часть. Материалом исследования являлась коллекция сортов льна масличного различного генетического и географического происхождения, депонированная в ИПЦ НАН Беларуси. Два сорта коллекции Gold Flax (Канада) и Amon (Чехия) относятся к типу солинных (низколиноленовых) форм. Молекулярно-генетический анализ генов *Fad3* десатураз проводили по адаптированной методике Vrinten [23]. Маркеры к генам *LuFad3A* и *LuFad3B* кодоминантны и позволяют различить дикие и мутантные аллели. Качество анализа маркера *LuFad3B* улучшено реамплификацией. Экстракцию и определение жирных кислот проводили по модифицированному методу Welch [28] на базе БГТУ. Статистический анализ данных осуществляли в программной среде Statistica 6,0 (StatSoft, США).

Адаптирована методика молекулярно-генетического анализа по специфическим маркерам к аллелям *LuFad3A* и *LuFad3B*. С целью увеличения выхода ПЦР-продукта количество циклов амплификации было доведено до 35, температура отжига праймеров снижена на $0,5^\circ\text{C}$. Для гена *LuFad3B* использована методика повторной амплификации. Проведен молекулярно-генетический и биохимический анализ доноров высокого и низкого содержания АЛК (рис. 2). На основе биохимического и молекулярно-генетического анализа отобраны контрастные по содержанию АЛК (18 : 3) формы льна (табл. 1). В качестве доноров низкого содержания АЛК предложены солинные сорта Gold Flax (Канада) и Amon (Чехия). Сорта Небесный, Ручеек (Россия), Lirina (Германия), Flanders (Канада), Omega (США), характеризующиеся высокой семенной продуктивностью и содержанием масла в семенах 43–45%, – возможным источником не только исходных генов высокоактивных $\omega 3$ десатураз, но и генов-регуляторов высокой экспрессии *LuFad3A* и *LuFad3B*. Получены гибриды F_1 , сочетающие гены сортов, контрастных по содержанию АЛК.

В полевых условиях 2009 г. выращено поколение F_1 , получены семена F_2 . Проведен анализ их жирнокислотного состава (табл. 2). Гибриды F_2 характеризуются сниженными, по сравнению с родительскими высоколиноленовыми формами, уровнем АЛК. Самый низкий и самый высокий уровень АЛК выявлены у гибридов Amon \times Lirina № 1 (18,3%) и Omega \times Amon № 2 (49,7%). В масле исследованных образцов выявлены повышенные, по сравнению с типичным содержанием, уровни стеариновой и олеиновой ЖК. Снижение уровня полиненасыщенных ЖК может быть обусловлено как влиянием погодных условий, так и рекомбинацией и взаимодействием генов в гибридном потомстве.

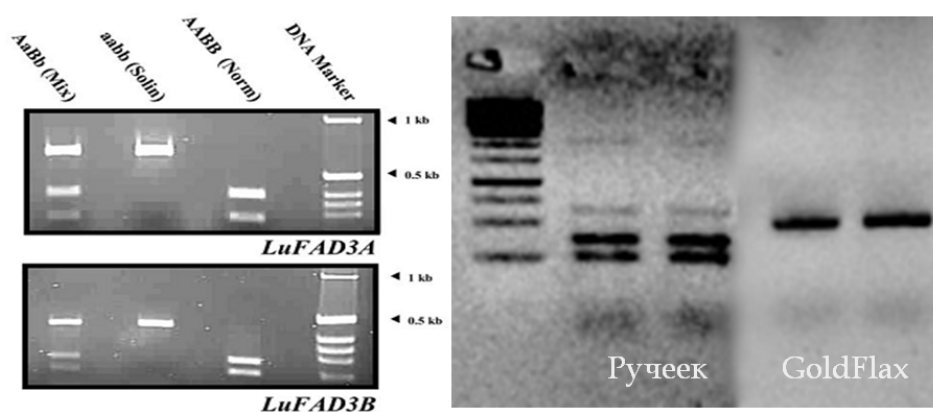


Рис 2. Кодоминантные маркеры к мутантному и дикому типу аллелей генов *LuFad3A* и *LuFad3B* (электрофорез в 1,5%-ном геле). По Vrinten (2005)

Таблица 1
Содержание ЖК в образцах льна масличного

Сорт	Жирные кислоты %					ЙЧ
	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	
Gold Flax	6,4	3,9	14,7	72,2	1,6	176,9
Amon	6,9	3,4	17,4	69,8	2,4	133,6
Небесный	6,4	3,6	18,2	11,3	58,2	180,6
Ручеек	6,9	5,1	21,4	12,2	51,6	177,8
Lirina	6,6	5,2	23,6	12,3	50,3	176,2
Flanders	5,1	3,2	15,5	15,4	59,6	135,2
Omega	5,5	4,6	20,0	16,3	45,0	170,5
Lirina × Amon № 1	6,1	13,3	32,0	8,2	31,5	129,9
Lirina × Amon № 2	5,8	17,1	31,8	6,3	28,7	118,5
Lirina × Amon № 3	6,2	20,2	25,1	8,3	29,9	119,2
Amon × Lirina № 1	6,6	16,2	37,5	10,0	18,3	102,0
Amon × Lirina № 2	6,4	5,8	24,4	7,6	36,4	135,3
Amon × Lirina № 3	6,4	15,2	29,2	10,1	27,7	120,5
Ручеек × Amon № 1	6,6	16,4	28,5	10,1	26,2	115,6
Ручеек × Amon № 2	6,6	15,6	29,5	10,1	26,1	116,3
Ручеек × Amon № 3	6,4	17,5	28,2	10,7	24,1	110,7
Amon × Ручеек № 1	6,4	4,2	17,0	5,1	46,9	153,0
Amon × Ручеек № 2	5,7	4,9	18,3	4,7	44,0	145,3
Amon × Ручеек № 3	6,3	13,8	26,1	6,9	38,1	140,2
Omega × Amon № 1	6,2	14,8	28,4	9,7	31,7	130,0
Omega × Amon № 2	5,8	4,4	14,7	4,6	49,7	157,6
Omega × Amon № 3	7,0	13,0	40,6	7,7	21,9	110,5
Flanders × Amon № 1	5,9	12,4	36,5	7,4	28,8	124,8
Flanders × Amon № 2	6,0	12,0	24,9	10,9	35,8	140,2
Flanders × Amon № 3	5,7	5,5	31,9	6,8	33,4	132,4

Уровень экспрессии генов Fad3 и активность соответствующих ферментов зависит от погодных условий года выращивания. По литературным данным [29], десатурирующие ферменты более активны при низких температурах окружающей среды, кроме того, из климатических факторов наибольшее влияние на маслообразовательный процесс и накопление жирных кислот оказывает влажность почвы в период созревания семян [30].

Для анализа роли условий окружающей среды в определении химического состава льняного масла проанализировали содержание ЖК в масле 25 сортов урожая двух лет, характеризующихся контрастными погодными условиями (рис. 3).

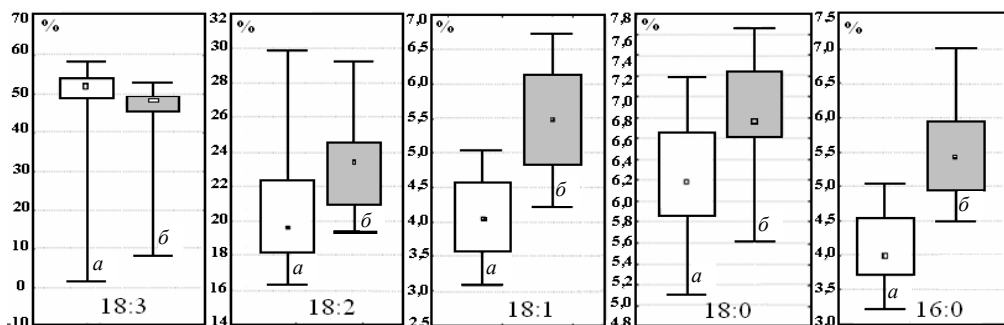


Рис. 3. Размах варьирования содержания ЖК в семенах льна масличного

Примечание. а – год с низкими среднесуточными температурами (17°С) и высокой влажностью; б – год с высокими среднесуточными температурами (19,2°С).

□ – медиана; ◻ – 25–75%; ⊥ – минимум–максимум

Для года, характеризующегося более высокими среднесуточными температурами (19,2°С, высокая влажность в период налива и созревания семян), выявлено снижение содержания ненасыщенных кислот и увеличение содержания насыщенных, стеариновой и пальмитиновой кислот, и мононенасыщенной олеиновой. В сравнении с более прохладным годом (17°С) уровень АЛК снизился на 3%, линолевой на 2%, тогда как на 3% увеличилось содержание олеиновой, на 1,5% стеариновой, на 0,5% пальмитиновой ЖК (рис. 3). Например, при созревании в условиях низких температур и высокой влажности содержание АЛК в масле сорта Gold Flax составило 8,25%, что значительно превышает характерные для соевых сортов 2% АЛК.

Для оценки доли генотипической обусловленности в определении жирнокислотного состава льняного масла проведен корреляционный анализ содержания отдельных жирных кислот в семенах 25 сортов льна масличного двух лет, результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2

Коэффициенты корреляции уровня основных ЖК в семенах льна урожая двух лет как показатель взаимности стохастического изменения по генотипам при изменении условий выращивания

ЖК	r
18 : 3	0,43*
18 : 2	0,50*
18 : 1	0,36
18 : 0	0,62*
16 : 0	0,89*

* Достоверно при $\alpha \leq 0,05$.

Наличие достоверной связи между уровнем ЖК в масле урожая разных лет подтвердит наличие общих закономерностей изменения биохимического состава семени у разных генотипов при изменении погодных условий. Корреляции значимы для α -линоленовой, линолевой, олеиновой и пальмитиновой кислот.

Высокие коэффициенты Пирсона отмечены для насыщенных ЖК (16 : 0 и 18 : 0), что в сочетании с незначительной разницей значений по годам исследования (1,5 и 0,5%) дает основания предполагать высокую генетическую обусловленность и низкую долю влияния погодных условий на изменчивость этих признаков. Между содержанием олеиновой кислоты в масле урожая двух лет достоверной связи не обнаружено. Уровень данной кислоты по годам изменяется в наибольшей степени (3%). Вероятно, данный признак более экологически пластичен.

Заключение. Исследована возможность использования кодоминантных маркеров к генам LuFad3A и LuFad3B в селекции льна масличного, предположительно, маркер-ассоциированный отбор позволит ускорить интрогрессию низколиноленового признака в адаптированные генотипы [31, 32]. Проведены реципрокные скрещивания образцов льна масличного, контрастных по содержанию АЛК (18 : 3) в масле семян. Варьирование уровня АЛК в семенах гибридов F₁ составило 18,3%–49,7%. Исследуемые гены обладают аддитивным эффектом, и линии, несущие мутацию в отдельном гене, имеют промежуточные уровни линоленовой кислоты (табл. 1). Самый низкий и самый высокий уровень АЛК выявлены у гибридов Amon × Lirina № 1 (18,3%) и Omega × Amon № 2 (49,7%). Для контроля генетической обусловленности содержания АЛК будет проведен молекулярно-генетический анализ по кодоминантным специфическим маркерам генов LuFad3A и LuFad3B.

Исследовано влияние условий года выращивания на биохимический состав льняного масла. У высших растений устойчивость к низким температурам коррелирует с наличием в мембранах полиненасыщенных ЖК [33]. По нашим данным, умеренная температура окружающей среды (17°C), высокая почвенная и атмосферная влажность способствуют накоплению АЛК в семенах льна (увеличение уровня 18 : 3 в среднем на 3%). Высокая экспрессия генов Fad3 десатураз может являться механизмом адаптации к низким температурам.

Анализ содержания АЛК в семенах 25 сортов льна, выращенных в сходных географических, но климатически различающихся условиях, выявил постоянство соотношения различных генотипов по жирнокислотному составу и достоверную взаимозависимость уровня АЛК, линолевой, пальмитиновой, стеариновой ЖК в образцах двух лет исследований. Таким образом, у льна высокая генотипическая обусловленность биохимического состава масла сочетается с экологической пластичностью экспрессии исследуемых признаков. Разработка

маркеров для генов биосинтеза жирных кислот и объединение их с физиолого-биохимическими подходами исследования может ускорить создание генотипов, адаптированных к погодным условиям Беларуси, с заранее спрогнозированным жирнокислотным составом масла.

Литература

1. Ohlrogge, J. Lipid biosynthesis / J. Ohlrogge, J. Browse // *The Plant Cell*. – 1995. – Vol. 7. – P. 957–970.
2. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression / R. A. Creelman [et. al] // *Proc. Natl. Acad. Sci.* – 1992. – № 89. – P. 4938–4941.
3. Gunstone, F. D. Fatty acids and lipid chemistry / F. D. Gunstone. – London: Blackie Academic and Professional, 1996. – 252 p.
4. Kinney, A. J. Genetic modification of storage lipids of plants / A. J. Kinney // *Curr. Opin. Biotechnol.* – 1994. – № 5. – P. 144–151.
5. Plant lipids: biology, utilization and manipulation / eds. Denis J. Murphy. – Wiley-Blackwell, 2005. – 403 p.
6. Watkins, S. M. Unsaturated Fatty Acids / S. M. Watkins, J. B. German // *Food Lipids – Chemistry, Nutritional and Biotechnology* / eds. C. C. Acon, D. B. Min. – NY., 1998. – Ch. 18. – P. 559–588.
7. Лось, Д. А. Структура, регуляция экспрессии и функционирование десатураз жирных кислот / Д. А. Лось // *Успехи биол. химии*. – 2001. – Т. 41. – С. 163–198.
8. Hazel, J. R. Thermal adaptation in biological membranes: Is homeoviscous adaptation the explanation / J. R. Hazel // *Annu. Rev. Physiol.* – 1995. – № 57. – P. 19–42.
9. Thompson, G. A. Jr. Membrane acclimation by unicellular organisms in response to temperature change / G. A. Jr. Thompson // *J. Bioenerg. Biomembr.* – 1989. – Vol. 21. – P. 43–60.
10. Lysophosphatidic acid acyltransferase from meadow foam mediates insertion of erucic acid at the sn-2 position of triacylglycerol in transgenic rapeseed oil / M. W. Lassner [et al.] // *Plant Physiol.* – 1995. – № 109. – P. 1389–1394.
11. Immunochemical evidence for participation of NADPH-cytochrome c reductase in microsomal fatty acyl-CoA desaturation of Tetrahymena cells lacking in cytochrome P-450 / H. Fukushima [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1983. – Vol. 115. – P. 456–462.
12. Temperature Adaptation of Biological Membranes / A. I. Macartney [et. al] // London: Portland Press, 1994. – P. 129–139.
13. Wada, H. The desA gene of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC6803 is the

structural gene for delta 12 desaturase / H. Wada, M. H. Avelange Macherel, N. Murata // J. Bacteriol. – 1993. – Vol. 175. – P. 6056–6058.

14. Browse, J. Glycerolipid metabolism, biochemistry and regulation / J. Browse, C. Somerville // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol. – 1991. – № 42. – P. 467–506.

15. Somerville, C. Plant Lipids, Metabolism mutants, and membranes / C. Somerville, J. Browse // Science. – 1991. – № 263. – P. 80–87.

16. A gene encoding a chloroplast omega-3 fatty acid desaturase complements alterations in fatty acid desaturation and chloroplast copy number of the Fad7 mutant of *Arabidopsis thaliana* / K. Iba [et al.] // J. Biol. Chem. – 1993. – № 268. – P. 24099–24105.

17. A mutation at the Fad8 locus of *Arabidopsis* identifies a second chloroplast ω -3 desaturase / M. McConn [et al.] // Plant Physiol. – 1994. – № 106. – P. 1609–1614.

18. Mutants of *Arabidopsis* deficient in the synthesis of α -linolenate. Biochemical and genetic characterization of the endoplasmic reticulum linoleoyl desaturase / J. Browse [et al.] // J. Biol. Chem. – 1993. – № 268. – P. 16345–16351.

19. James, D. W. Isolation of EMS-induced mutants in *Arabidopsis* altered in seed fatty acid composition / D. W. James, H. K. Dooner // Theor. Appl. Genet. – 1990. – № 80. – P. 241–245.

20. Mutants of *Arabidopsis* with alterations in seed lipid fatty acid composition / B. Lemieux [et al.] // Theor Appl Genet. – 1990. – № 80. – P. 234–240.

21. Browse, J. A. A mutant of *Arabidopsis* deficient in C18 : 3 and C16 : 3 leaf lipids / J. A. Browse, P. J. McCourt, C. R. Somerville // Plant Physiol. – 1986. – № 81. – P. 859–864.

22. Bhatta, R. S. Nutrient composition of whole flaxseed and flaxseed meal / R. S. Bhatta // Flaxseed in Human Nutrition / eds S. C. Cunnane, L. U. Thompson. – AOCS Press Champaign IL, 1995. – Ch. 7. – P. 22–42.

23. Green, A. G. A mutant genotype of flax (*Linum usitatissimum* L.) containing very low lev-

els of linolenic acid in its seed oil / A. G. Green // Can J Plant Sci. – 1986. – № 66. – P. 499–503.

24. Rowland, G. G. An EMS-induced low linolenic-acid mutant in McGregor flax (*Linum usitatissimum* L.) / G. G. Rowland // J Plant Sci. – 1991. – № 71. – P. 393–396.

25. Green, A. G. Isolation of induced mutants in linseed (*Linum usitatissimum*) having reduced linolenic acid content / A. G. Green, D. R. Marshall // Euphytica. – 1984. – № 33. – P. 321–328.

26. Tonnet, M. L. Characterization of the seed and leaf lipids of high and low linolenic acid flax genotypes / M. L. Tonnet, A. G. Green // Arch Biochem. Biophys. – 1987. – № 252. – P. 646–654.

27. Two Fad3 Desaturase Genes Control the Level of Linolenic Acid in Flax Seed / P. Vrinten [et al.] // Plant Physiol. – 2005. – Vol. 139, № 1. – P. 79–87.

28. Welch, R. W. A micro-method for the estimation of oil content and composition in seeds crops / R. W. Welch // J. Sci. Food Agr. – 1977. – Vol. 28, № 4. – P. 635–638.

29. Johnston, G. Effect of growth temperature on the biosynthesis of chloroplastic galactosylacylglycerol molecular species in *Brassica napus* leaves / G. Johnston, P. Williams // Plant Physiol. – 1988. – Vol. 91, № 3. – P. 924–929.

30. Щербаков, В. Г. Биохимия и товароведение масличного сырья / В. Г. Щербаков, В. Г. Лобанов. – М.: Колос, 2003. – 360 с.

31. Collard, B. C. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century / B. C. Collard, D. J. Mackill // Philos. Trans R. Soc. – 2007. – Vol. 363, № 1491. – P. 557–572.

32. Ribaut, J.-M. Marker assisted selection: new tools and strategies / J.-M. Ribaut, D. A. Hoisington // Trends Plant. Sci. – 1998. – № 3. – P. 236–239.

33. Skriver, L. Temperature-induced changes in fatty acid unsaturation of *Tetrahymena* membranes do not require induced fatty acid desaturase synthesis / L. Skriver, G. A. Thompson // Biophys. Acta. – 1979. – Vol. 572. – P. 376–381.

Поступила 26.03.2010