

OPLEMENJIVANJE SUNCOKRETA NA POBOLJŠAN SADRŽAJ I SASTAV ULJA

*Sandra Cvejić, Siniša Jocić, Milan Jocković, Aleksandra Radanović, Nemanja Ćuk,
Nada Grahovac, Dragana Miladinović, Vladimir Miklič*

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad,
Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Srbija

IZVOD

Suncokret je četvrta najvažnija uljana biljna vrsta na svetu i najvažnija uljarica u Srbiji. Zbog visokog sadržaja mono- i polinezasićenih masnih kiselina, kao i tokoferola, suncokretovo ulje se najčešće koristi ljudskoj ishrani. Za razliku od ostalih biljnih ulja, oko 90% celokupne proizvodnje suncokretovog ulja koristi u prehrambenoj industriji, dok se samo 10% koristi za proizvodnju biodizela i u industrijske svrhe. Oplemenjivanjem suncokreta dolazi do značajnog povećanja sadržaja ulja i promene u sastavu ulja, čime se povećava količina i poboljšava kvalitet ulja. U tu svrhu koriste se i konvencionalne i molekularne metode u oplemenjivanju suncokreta. Usled globalne promene klimatskih uslova, oplemenjivanje suncokreta na povećanu produktivnost i poboljšan kvalitet dobija sve veću važnost.

Ključne reči: suncokret, hibrid, sadržaj ulja, sastav ulja, tokoferoli, markeri

SUNFLOWER BREEDING FOR IMPROVED OIL CONTENT AND COMPOSITION

ABSTRACT

Sunflower is the fourth most important oil crop in the world and the most important in Serbia. Due to the high content of mono- and polyunsaturated fatty acids, as well as tocopherols, sunflower oil is most commonly used in the human consumption. Unlike other vegetable oils, about 90% of all sunflower oil production is used in the food industry, while only 10% is used for biodiesel production and for industrial purposes. Sunflower breeding resulted in significant increase in oil content and changes in seed oil composition, thereby contributing to improvement of both quantity and quality of the oil. For this purpose, conventional and molecular methods are used in sunflower breeding. Due to global climate change, sunflower breeding for increased productivity and improved quality is gaining in importance.

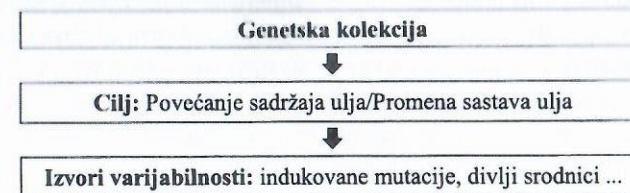
Key words: sunflower, hybrid, oil content, oil composition, tocopherols, markers

UVOD

Suncokret (*Helianthus annuus* L.) spada među četiri najvažnije biljne vrste u svetu koje se gaje radi proizvodnje jestivog ulja. Glavni proizvođači suncokreta su Ukrajina, Rusija, Evropska unija i Argentina koje zauzimaju 76% globalne proizvodnje suncokreta (Martinez-Force i sar., 2015). U Srbiji je suncokret glavna uljana biljna vrsta, sa preko 80% ukupno proizvedene količine od svih ulja biljnog porekla. Za razliku od ostalih biljnih ulja, suncokretovo ulje se, približno 90% od celokupne proizvodnje koristi u prehrambenoj industriji, dok se samo 10% koristi za proizvodnju biodizela i za industrijske svrhe. Razlog tome je visokog sadržaja mono- i polinezasićenih masnih kiselina, kao i tokoferola, koji su poželjni u ljudskoj ishrani.

Oplemenjivanje suncokreta se uspešno koristi u stvaranju sorti i hibrida već preko jedan vek. Istorijski gledano, oplemenjivanje suncokreta se deli u tri faze, u zavisnosti od metoda oplemenjivanja koji se pretežno koristio u određenom razdoblju. To su: masovna selekcija, zatim metoda individualne selekcije za stvaranje sorti i na kraju metode za stvaranje hibrida (Jocić i sar., 2015). Masovna selekcija je doprinela širenju suncokreta i stvaranju brojnih lokalnih sorti koje su imale sadržaj ulja oko 20-30%. Metod individualne selekcije sa očuvanjem rezerve semena uvedena je u oplemenjivanje suncokreta oko 1920. godine i poznata je kao Pustovoitova metoda rezerve semena (Jocić i sar., 2015). Glavni doprinos ove metode u proizvodnji suncokreta je u stvaranju sorti sa povećanim sadržaja ulja, sa do 43-46% (Fick i Miller, 1997). Ove sorte su doprinele globalnoj ekspanziji suncokreta kao uljane biljne vrste, a neke od njih se još uvek gaje u Rusiji i drugim zemljama. Sredinom 20. veka, oplemenjivački programi suncokreta šire se i u druge zemlje sveta, i to u Kanadi, SAD-u, Francuskoj, Rumuniji, Jugoslaviji i dr. Oplemenjivački programi bili su usmereni na stvaranje hibrida suncokreta korišćenjem heterozisa. Glavna prednost hibrida u odnosu na sorte je veća produktivnost, uniformnost useva, lakše unošenje gena itd. Priroda dvopolnih cvetova je glavni razlog zašto je upotreba heterozisa kod suncokretima moguća samo postojanjem odgovarajućeg izvora muške sterilnosti. Otkrivanje citoplazmatske muške sterilnosti (Leclercq, 1969) i gena za restauraciju fertiliteta (Kinman, 1970) olakšano je praktično korišćenje heterozisa i stvaranje hibrida suncokreta. Od tada su se širom sveta, isključivo, počeli gajiti hibridi suncokreta (Škorić, 2012).

Za uspešno oplemenjivanje suncokreta potrebno je postojanje genetske kolekcije koja se razlikuje u velikom broju osobina. Kolekciju uglavnom čine divlje vrste suncokreta, gen-banka kulturnih inbred linija, genotipovi stvoreni indukovanim mutacijama, sorte i lokalne populacije, kao i sintetičke populacije dobijene različitim metodama selekcije. Postojanje genetske varijabilnosti u pogledu sadržaja ulja kao i sastava masnih kiselina i tokoferola su preduslov za uspešno oplemenjivanje na ove osobine (slika 1).



Slika 1. Šematski prikaz oplemenjivanja suncokreta na povećan sadržaj ulja/promenjen sastav ulja

Figure 1. A schematic representation of sunflower breeding for increased oil content/altered oil content

U poređenju sa konvencionalnim oplemenjivanjem, gde su biljke izabranene osnovu njihovog fenotipa, marker asistirana selekcija (MAS) pomaže oplemenjivačima u odabiru biljaka sa poželjnim genima na osnovu genetske povezanosti između markera i ciljanog gena. Otkako je prva molekularna mapa suncokreta postala dostupna 1995. godine, mapirane su mnoge osobine. Tokom godina, različiti molekularni markeri (od polimorfizma dužine restrikcionog fragmenta (RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism) do specifičnijih kao što je polimorfizam jednog nukleotida (SNP - Single Nucleotide Polymorphism) korišćeni su za mapiranje poželjnih gena. Marker asistirana selekcija se često koristi za unošenje major gena, kao što su: otpornost na bolesti i volovod, tolerantnost na herbicide, visoko-oleinski gen i/ili gen za restauraciju fertiliteta (Dimitrijević i Horn, 2018). Analiza lokusa kvantitativnih osobina (QTL - Quantitative Trait Loci) se koristi kod osobina koje se poligeno nasleđuju, kao što su, prinos semena, sadržaj ulja, dužina vegetacionog perioda, visina biljke, ali i otpornost na neke bolesti i dr. (Dimitrijević i Horn, 2018), slika 1.

OPELEMENJIVANJE NA POVEĆAN SADRŽAJ ULJA

S obzirom da se suncokret gaji za proizvodnju ulja, sadržaj ulja i prinos ulja su glavne osobine u oplemenjivanju suncokreta. Sadržaj ulja je kvantitativna osobina i na njega utiču faktori spoljašnje sredine, ali i druge osobine prinosa. Najčešći način nasljeđivanja sadržaja ulja u F1 generaciji je dominacija boljeg roditelja, ali je bilo

slučajeva dominacije roditelja sa nižim sadržajem ulja, heterozisa i negativnog heterozisa (Škorić, 2012). Aditivno i dominantno delovanje gena imaju značajnu ulogu u nasleđivanju sadržaja ulja ali je utvrđen veći uticaj aditivne komponente. Dobijanje hibrida sa visokim sadržajem ulja vrši se ukrštanjem odabranih roditeljskih linija koje sadrže veći broj gena uključenih u povećanje sadržaja ulja (Jocić i sar., 2015).

Prva molekularna istraživanja o sadržaju ulja kod suncokreta počela su korišćenjem RFLP markera, kada su Leon i sar. (1995, 2003) mapirali 6, odnosno 8 QTL-ova, koji su objasnili 57%, odnosno 88% genetske varijabilnosti sadržaja ulja u semenu. Većina QTL-ova su imali aditivan efekat, dok su neki bili dominantni. Svi QTL-ovi povezani sa visokim sadržajem ulja potiču iz roditeljske linije sa visokim sadržajem ulja (HA 39). Mokrani i sar. (2002) mapirali su šest QTL-ova na hromozomima 9, 11 i 13 pomoću AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism – polimorfizam dužine umnoženih fragmenata) i SSR (Simple Sequence Repeats - jednostavne ponavljajuće sekvence) markera, objašnjavajući na taj način 90,4% fenotipske varijanse za sadržaj ulja. QTL mapiran na hromozomu 13, sa epistatičkim efektom, okarakterisan je kao najvažniji i čini 47% fenotipske varijanse. Tang i sar. (2006) su koristili SSR i INDEL Inertion/Deletion – Insercija/Delecija) markere za identifikaciju QTL-ova povezanih sa sadržajem ulja u semenu i otkrili šest QTL-ova na hromozomima 1, 4, 9, 10, 16 i 7, što objašnjava 55,7% fenotipske varijacije. Premnath i sar. (2016) identifikovali u dva QTL-a povezana sa sadržajem ulja u hromozomima 7 i 8, objašnjavajući 12,8 i 14,9% fenotipske varijanse, dobijene iz F2 populacije ukrštanjem linije sa visokim sadržajem ulja i linije sa srednjim sadržajem ulja.

Genomska selekcija (GS – Genomic Selection) može da se koristi u predviđanju hibridnih performansi sadržaja ulja koristeći fenotipsku i genotipsku ocenu hibrida, da roditeljske komponente nisu nužno uključene. Maning i sar. (2017) su pokazali redukciju sadržaja ulja hibrida suncokreta korišćenjem GS. U studiji su koristili 52 hibrida suncokreta dobijenih ukrštanjem 36 majčinskih linija i 36 linija oca. ekvencioniranje roditeljskih linija omogućilo je identifikaciju 468 194 SNP markera vezanih za sadržaj ulja hibrida. Autori su utvrdili da je predviđanje ponašanja hibrida na osnovu uobičajene OKS (opšte kombinacione sposobnosti) i genomske selekcije isto jednake preciznosti, u slučaju kada je OKS za sadržaj ulja svakog roditelja dobro procenjena, a imajući u vidu da je u pitanju osobina koju karakteriše visoka eritabilnost i koja je u najvećoj meri aditivna.

OPLEMENJIVANJE NA PROMENJEN SASTAV ULJA

Nasuprot sadržaju ulja, sastav masnih kiselina se kvalitativno nasleđuje što znači da njima upravlja jedan ili nekoliko gena. Njihova fenotipska ekspresija je, stoga, anje pod uticajem spoljašnje sredine nego u slučaju kvantitativnih osobina kao što je sadržaj ulja (Velasco i sar., 2002). Postoje dve glavne vrste suncokretovog ulja menjene ljudskoj ishrani: standardni (linolni) i visoko-oleinski tip. Standardno suncokretovo ulje (linolni tip) sastoji se od polinezasićene linolne masne kiseline

(C18:2) oko 70%, i monozasićene oleinske kiseline (C18:1) oko 20%, dok se zasićene palmitinske i stearinske masne kiseline nalaze u nižim procentima. Visoko-oleinski tip ima sadržaj oleinske kiseline iznad 80%, a postoje i genotipovi koji imaju sadržaj oleinske kiseline preko 60% i zovu se srednje oleinski tip, mid-oleic (Jocić i sar., 2015).

Za stvaranje hibrida suncokreta sa izmenjenim kvalitetom ulja neophodno je postojanje varijabilnosti unutar populacije. U nedostatku prirodne varijabilnosti, koriste se indukovane mutacije. Najznačajnije dostignuće korišćenjem indukovanih mutacija razvio je Soldatov (1976), koji je koristio hemijske mutagense kod sorte VNIMK 8931 i stvorio sortu Pervenets koja je imala oko 80% oleinske kiseline. Sorta Pervenets služi kao izvor visolooleinskog svojstva u oplemenjivačkim programima širom sveta. Pored visoko oleinskog suncokretovog ulja, indukovane mutacije i mutantne linije mogu se koristiti i za razvoj novih vrsta suncokretovog ulja, poput različitih koncentracija palmitinske i stearinske masne kiseline (tabela 1). Kako se na sadržaj specifične masne kiseline može uticati promenom sadržaja druge masne kiseline, oplemenjivači moraju biti upoznati sa načinom nasleđivanja osobine kvaliteta ulja koja će se poboljšati selekcijom.

Način nasleđivanja sadržaja oleinske kiseline proučavali su mnogi autori i utvrdili da je prisustvo gena *Ol₁* ključalno za stvaranje visokooleinskih genotipova suncokreta, iako je u ovo svojstvo umešano više gena čiji broj i funkciju još treba utvrditi. Molekularne studije pomažu u otkrivanju i funkciji *Ol₁* gena. Utvrđeno je da je povećani sadržaj oleinske kiseline posledica utišavanja gena izazvanog delimičnim dupliranjem gena *FAD2-1* (oleoil-fosfatidil holin desaturaza) (Schuppert i sar., 2006). Ovo umnožavanje se stoga naziva *Ol* mutacija/lokus (Dimitrijević i sar., 2017). Perez-Vich i sar. (2002) su mapirali tri QTL-a na hromozomima 1, 8 i 14 pomoću RFLP i AFLP markera. Od tri QTL-ova, QTL na hromozomu 14 označen je kao najvažniji, objašnjavajući 56,5% fenotipske varijacije. Primećena je značajna epistatička interakcija između QTL-a na hromozomu 14 i QTL-a na hromozomu 8. Slične rezultate su dobili i Schuppert i sar. (2006), izveštavajući da je *Ol* gen lociran na hromozomu 14, korišćenjem različitih SNP, SSR i INDEL markera. Premnath i sar. (2016) su izdvojili potencijalnu upotrebu markera ORS 762 i HO_Fsp_b povezanih sa QTL-ovima na hromozomima 8 i 14, pogodne za marker asistiranu selekciju.

Načine nasleđivanja visokog i niskog sadržaja zasićenih masnih kiselina proučavali su mnogi autori (Cvejić i sar., 2014).

Tabela 1. Sastav masnih kiselina mutančnih linija suncokreta u poređenju sa standardnim tipom (Cvejić i sar., 2014)

Table 1. Fatty acid composition of the principal induced mutants of sunflower in comparison with the standard types

Mutantna linija Mutant line	Tip ulja Oil type	Sastav masnih kiselina (%) Fatty acid composition (%)					Mutagen tretman Mutagenic treatment
		C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	
Standard		5,7		5,8	20,7	64,5	
Nizak sadržaj zasićenih masnih kiselina/Low content in saturated fatty acids							
LS-1	Low C18:0	5,6		4,1	20,2	67,4	NMU (4-8 g kg ⁻¹)
LS-2	Low C18:0	8,6		2,0	10,8	75,0	NMU (4-8 g kg ⁻¹)
LP-1	Low C16:0	4,7		5,4	23,8	63,7	EMS (4-8 g kg ⁻¹)
Visok sadržaj palmitinske kiseline/High content in palmitic acid							
275HP	High C16:0	25,1	6,9	1,7	10,5	55,8	γ-rays (1550 R)
CAS-5	High C16:0	25,2	3,7	3,5	11,4	55,1	X-rays (150 Gy)
CAS-12	High C16:0	30,7	7,6	2,1	56,0	3,1	X-rays (150 Gy)
CAS-37	High C16:0-C16:1	29,5	12,3	1,4	5,4	38,7	X-rays (150 Gy)
NP-40	High C16:0	23,9	3,4	2,0	20,4	50,7	EMS (70 mM)
Visok sadržaj stearinske kiseline/High content in stearic acid							
CAS-3	High C18:0	5,1		26,0	13,8	55,1	EMS (70 mM)
CAS-4	Medium C18:0	5,4		11,3	34,6	48,0	NaN ₃ (2-4 mM)
CAS-8	Medium C18:0	5,8		9,9	20,4	63,8	NaN ₃ (2-4 mM)
CAS-14	Very high C18:0	8,4		37,3	12,4	38,0	NaN ₃ (2-4 mM)
Visok sadržaj oleinske kiseline/High content in oleic acid							
Pervenets	High C18:1				79,3	14,8	DMS (0,5%)
HO line	High C18:1	4,9		2,9	90,3	1,8	DMS (0,5%)
M-4229	High C18:1	3,4		4,1	86,1	3,9	EMS (0,1%)
M-3067	Mid C18:1	3,9		5,2	54,6	33,9	EMS (0,1%)

TOKOFEROLI I FITOSTEROLI

Kvalitet suncokretovog ulja ne određuje samo sastav masnih kiselina već i sadržaj tokoferola i fitosterola. Ukupni sadržaj tokoferola (vitamin E) u standardnom suncokretovom ulju je približno 700 mg/kg, a može dostići i do 1000 mg/kg. Postoje četiri derivata tokoferola: α-tokoferol, β-tokoferol, γ-tokoferol i δ-tokoferol (Demurin i sar., 1996). Standardno suncokretovo ulje sadrži uglavnom α-tokoferol (>90%), ali moguće je dobiti druge derivate tokoferola i samim tim različite kvalitete suncokretovog ulja uz kombinacije *tph* gena. Škorić i sar. (2008) je izvestio da *tph1* proizvodi 50% α- i 50% β-tokoferola, a *tph2* proizvodi 0–5% α- i 95–100% γ-tokoferola, dok njihova kombinacija (*tph1tph2*) proizvodi 8–40% α-, 0–25% β-, 25–84% γ- i 8–50% δ-tokoferola. Kombinovanjem gena za visoku oleinsku kiselinu i gena za različite sadržaje tokoferola moguće je dobiti suncokretovo ulje različitog kvaliteta (Škorić, 2012).

Vera-Ruiz i sar. (2006) su mapirali *Tph1* gen odgovoran za povećani sadržaj β-tokoferola (više od 30%). *Tph1* gen je kosegregirao sa tri SSR markera, ORS1093, ORS222 i ORS598 i bio je smešten na gornjem kraju hromozoma 1. Garcia-Moreno i sar. (2006) su mapirali gen *Thp2* iz izvora γ-tokoferola. Razvijene su četiri linije sa visokim sadržajem γ-tokoferola i utvrđeno je da osobinu kontrolišu recesivni aleli na *Tph2* lokusu. *Tph2* lokus je smešten na hromozomu 8.

U ulju semena suncokreta ukupni sadržaj fitosterola predstavlja sumu kampesterola, stigmasterola, β-sitosterola, Δ7-kampesterola, Δ5-avenasterola, Δ7-stigmasterola i Δ7-avenasterola (Ayerdi Gotor i sar., 2008). Haddadi i sar. (2012) su mapirali kandidat gene povezanih sa fitosterolima, koji bi mogli da se koriste u razvijanju funkcionalnih markera.

ZAKLJUČAK

Značajan doprinos u povećanju sadržaja i promeni kvaliteta ulja semena suncokreta je postignut u programima oplemenjivanja suncokreta. Stvoreni su novi hibridi suncokreta sa visokim sadržajem oleinske kiseline koji pružaju niz mogućnosti za upotrebu u prehrambenoj i neprehrambenoj industriji. Pored visokooleinskih genotipova, do sada su razvijeni genotipovi sa visokim, srednjim i niskim nivoima zasićenih masnih kiselina, srednjim nivoima oleinske kiseline, kao i visokim nivoima β-, γ- i δ-tokoferola, pružajući veću varijabilnost masne kiseline i tokoferola u suncokretovom ulju nego bilo koji drugi usev. Kombinacija ovih osobina osobina u jednom fenotipu, omogućava stvaranje specijalnih ulja specifične namene u prehrambenoj i neprehrambenoj industriji, čime se garantuje budućnost suncokreta kao uljane biljne vrste na globalnom tržištu.

Zahvalnica

Rad je nastao kao rezultat projekta TR 31025 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije i Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovane i naučno-istraživačku delatnost, Autonomne pokrajine Vojvodine.

LITERATURA

- Ayerdi Gotor, A., Berger, M., Labalette, F., Centis, S., Dayde, J., Calmon, A. (2008). Near infrared spectrometry (NIRS) prediction of minor components in sunflower seeds. In: Proceedings of 17th international sunflower conference, vol 2. Córdoba, Spain, 8-12 June 2008, pp. 763-769.
- Cvejić, S., Miladinović, D., Jocić, S. (2014). Mutation breeding for changed oil quality in sunflower. In Mutagenesis: exploring genetic diversity of crops, Tomlekova, N.B., Kozgar, M.I., Wani, M.R. (eds.), Wageningen Academic Publishers, pp. 77-96.
- Demurin, Y., Skoric, D., Karlovic, D. (1996). Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds as a basis of breeding for improved oil quality. *Plant breeding*, 115(1), 33-36.
- Dimitrijevic, A., Horn, R. (2018). Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection. *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 2238.
- Dimitrijević, A., Imerovski, I., Miladinović, D., Cvejić, S., Jocić, S., Zeremski, T., Sakač, Z. (2017). Oleic acid variation and marker-assisted detection of Pervenets mutation in high-and low-oleic sunflower cross. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 17(3), 235-241.
- García-Moreno, M.J., Vera-Ruiz, E.M., Fernández-Martínez, J.M., Velasco, L., Pérez-Vich, B. (2006). Genetic and molecular analysis of high gamma-tocopherol content in sunflower. *Crop science*, 46(5), 2015-2021.
- Haddadi, P., Ebrahimi, A., Langlade, N. B., Yazdi-Samadi, B., Berger, M., Calmon, A., Sarrafi, A. (2012). Genetic dissection of tocopherol and phytosterol in recombinant inbred lines of sunflower through quantitative trait locus analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding*, 29(3), 717-729.
- Jocić, S., Miladinović, D., Yalcin, K., (2015). Breeding and Genetics of Sunflower. In Sunflower Chemistry, Production, Processing and Utilization. Martinez-Force, E., Dunford, N.T., Salas, J.J. (eds.), Urbana, Illinois, AOCS Press, pp. 1-25.
- Kinman, M.L. (1970). New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs. In Proceedings of the 4th International Sunflower Conference, Memphis, TN, pp. 181-183.
- Leclercq, P., (1969). Une Sterilite Cytoplasmique chez le Tournesol, *Ann. Amelior. Plant*, 19, pp. 99-106.
- León, A.J., Andrade, F.H., Lee, M. (2003). Genetic analysis of seed-oil concentration across generations and environments in sunflower. *Crop science*, 43(1), 135-140.
- León, A.J., Lee, M., Rufener, G.K., Berry, S.T., Mowers, R.P. (1995). Use of RFLP markers for genetic linkage analysis of oil percentage in sunflower seed. *Crop science*, 35(2), 558-564.
- Mangin, B., Bonnafous, F., Blanchet, N., Boniface, M-C., Munos, S., Poully, N., Vear, F., Vincourt, P., Langlade, N.B. (2017). Genomic Prediction of Sunflower Hybrids Oil Content. *Front. Plant Sci.*, 8: 1633.
- Martinez-Force, E., Dunford, N.T., Salas, J.J. eds., (2015). Sunflower: chemistry, production, processing, and utilization. Elsevier.
- Miller, J.F. and Fick, G.N. (1997). The genetics of sunflower. In Sunflower technology and production. Agronomy Monograph 35, Schneiter, A.A. (ed.), ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA, pp. 395-439.
- Pérez-Vich, B., Fernandez-Martinez, J.M., Grondona, M., Knapp, S.J., Berry, S.T., (2002). 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*, 104(2-3), 338-349.
- Premnath, A., Narayana, M., Ramakrishnan, C., Kuppusamy, S., Chockalingam, V. (2016). Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Molecular breeding*, 36(7), 106.
- Schuppert, G.F., Tang, S., Slabaugh, M.B., Knapp, S.J. (2006). The sunflower high-oleic mutant Ol carries variable tandem repeats of FAD2-1, a seed-specific oleoyl-phosphatidyl choline desaturase. *Molecular Breeding*, 17(3), 241-256.
- Soldatov, K.I. (1976). Chemical mutagenesis in sunflower breeding. In Proceedings of the 7th International Sunflower Conference. ISA, Krasnodar, USSR, 23 June-3 July, pp. 352-357.
- Škorić, D. (2012). Sunflower breeding. In Sunflower Genetics and Breeding. Škorić, D. and Sakač, Z. (eds), Serbian Academy of Sciences (SASA), Branch in Novi Sad, Novi Sad, pp. 164-344.
- Škorić, D., Jocić, S., Sakac, Z., Lecić, N., (2008). Genetic Possibilities for Altering Sunflower Oil Quality to Obtain Novel Oils. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 86, 215-221.
- Tang, S., Leon, A., Bridges, W.C., Knapp, S.J. (2006). Quantitative trait loci for genetically correlated seed traits are tightly linked to branching and pericarp pigment loci in sunflower. *Crop Science*, 46(2), 721-734.
- Velasco, L., Fernández-Martínez, J.M., Garcia-Ruiz, R., Domínguez, J. (2002). Genetic and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial hybrids. *The Journal of Agricultural Science*, 139(4), 425-429.
- Vera-Ruiz, E.M., Velasco, L., Leon, A.J., Fernández-Martínez, J.M., Pérez-Vich, B. (2006). Genetic mapping of the *Tph1* gene controlling beta-tocopherol accumulation in sunflower seeds. *Molecular Breeding*, 17(3), 291-296.