

ОЦЕНКА НОВОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГЕТЕРОЗИСНОЙ СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОГО РАПСА, СОЗДАННОГО НА ОСНОВЕ ДВУХ СИСТЕМ ЦМС

Владимир Владимирович Карпачев
Игорь Олегович Пастухов

Всероссийский научно-исследовательский институт рапса

Одним из направлений селекции ярового рапса является создание гетерозисных гибридов. Для использования гибридов в производстве необходимо контролируемое опыление на основе мужской стерильности материнской формы и отцовской линии – восстановителя фертильности гибрида F_1 , которое обеспечивает надежную систему семеноводства. На основе цитоплазматической мужской стерильности осуществляется наиболее простое семеноводство. Чаще всего оно происходит на двух типах цитоплазматической мужской стерильности – *polima* и *ogura*. Стерильные линии и восстановители фертильности, отобранные для изучения, были созданы во Всероссийском НИИ рапса и оценены по селекционно ценным характеристикам. Особое внимание было уделено видам, давно введенным в культуру, легко скрещивающимся с рапсом и имеющим обширный ареал произрастания, в связи с чем отличающимся генетическим разнообразием. Размножение производилось в групповых сетчатых изоляторах и в изоляторах при ручном опылении. Во время изучения оценивалась средняя продуктивность линий, энергия прорастания и всхожесть семян. Выявлено, что источник стерильной цитоплазмы существенно не влиял на продуктивность изучаемых образцов, а продуктивность фертильного закрепителя стерильности чаще была выше, чем у стерильных образцов. Замечено, что созданные восстановленные гибриды F_1 существенно превысили по урожайности стандарт сорт Ратник, а на стерильной цитоплазме типа *polima* и *ogura* наблюдались различия. Исследование показало, что стерильные линии при свободном опылении имели более высокую продуктивность, чем стерильные линии, полученные в групповых сетчатых изоляторах. Установлено, что биологически чистые семена с высокими посевными характеристиками можно выращивать в групповых сетчатых изоляторах. Показано, что для создания гибридов на типе цитоплазмы *polima* практический интерес представляет восстановитель этого типа LHR-1. При этом восстановитель типа *polima* дает более низкий гетерозисный эффект, чем восстановитель типа *ogura* RGR-1.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цитоплазматическая мужская стерильность, гибриды, гетерозис, яровой рапс.

EVALUATION OF NEW MATERIAL FOR HETEROTIC BREEDING OF SPRING RAPE CREATED ON THE BASIS OF TWO CMS SYSTEMS

Vladimir V. Karpachev
Igor O. Pastukhov

All-Russian Research Institute of Rapeseed

One of the directions of spring rape breeding is the creation of heterotic hybrids. In order to use hybrids in production it is necessary to have a controlled pollination based on male sterility of the maternal form and the paternal line of an F_1 hybrid fertility restorer, which provides a reliable seed production system. Cytoplasmic male sterility is the basis for the simplest seed production. Most often it occurs on two types of cytoplasmic male sterility: *polima* and *ogura*. Sterile lines and fertility restorers selected for this study were created at the All-Russian Research Institute of Rapeseed and evaluated for the characteristics valuable for breeding. Special attention was paid to species that have long been introduced into cultivation, can easily interbreed with rape and have a wide range of growth, and therefore are characterized by genetic diversity. Reproduction was carried out in group mesh cages and in cages with manual pollination. During the study the authors evaluated the average productivity of lines, the energy of germination and the germination capacity of seeds. It was found that the source of sterile cytoplasm did not significantly affect the productivity of the studied samples, while the productivity of the fertile sterility maintainer was often higher than that of the sterile samples. It was noted that the created restored F_1 hybrids were significantly superior to the Ratnik cultivar standard in terms of crop yield, while in the sterile cytoplasm of the *polima* and *ogura* types certain differences were observed. The study has shown that sterile lines with free pollination had a higher productivity than sterile lines created in group mesh cages. It has been established that biologically pure seeds with high seeding characteristics can be grown in group mesh cages. It is shown that for the purpose of creation of hybrids on the *polima* type of cytoplasm the LHR-1 restorer of this type is of practical interest. In this case, the *polima* type restorer produces a weaker heterotic effect than the RGR-1 *ogura* type restorer.

KEY WORDS: spring rape, heterotic breeding, cytoplasmic male sterility, hybrids, valuable for breeding characteristics.

Введение

Использование эффекта гетерозиса получило широкое распространение благодаря цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) и генетической регуляции восстановления фертильности [2].

Создание гетерозисных гибридов является одним из самых перспективных направлений селекции рапса [6, 7]. Использование гибридов в производстве невозможно без надежной системы семеноводства: контролируемого опыления на основе мужской стерильности материнской формы и отцовской линии – восстановителя фертильности гибрида F₁.

Наиболее простое семеноводство гибридов осуществляется на основе ЦМС. Существует несколько типов ЦМС: одни обнаружены внутри вида, а другие получены на основе отдаленных скрещиваний. Разница в их функционировании определяет способы селекционного создания родительских линий и особенности семеноводства на участках гибридизации [8].

В качестве источников селекционно ценных признаков особый интерес представляют виды, которые давно введены в культуру, относительно легко скрещиваются с рапсом, имеют обширные ареалы произрастания и, следовательно, отличаются генетическим разнообразием [3]. На практике в основном используют две системы ЦМС – *polima*, выделенную из сорта польского происхождения, и *ogura*, полученную в результате межвидовой гибридизации [1].

В селекции культурных растений межвидовая гибридизация является одним из наиболее перспективных способов получения нового исходного материала. Данный метод особенно актуален при создании новых селекционных источников для рапса, что связано с узким естественным генофондом, который имеет эта культура.

Восстановители для типа *polima* выделены из горчицы сарептской рапса [10] и рапса [9]. Гены-восстановители фертильности типа *ogura* переданы в *B. napus* от *Raphanus sativus*.

Методика эксперимента

Стерильные линии с ЦМС типа *polima*, отобранные нами для изучения, были созданы во ВНИИ рапса на основе следующих образцов: линия LMS-1 (Masora – образец из коллекции ВНИИ растениеводства (каталог ВИР № к-4809)), линия АМСW – любезно предоставлена канадским селекционером Р. В. Е. McVetty, и образец LHS-1 – выделен из селекционного материала. Стерильные линии с ЦМС типа *ogura* выделены из образцов СС-03, М-133 и РF7410/94. В качестве закрепителя стерильности для выделенных стерильных линий использовали самоопыленную линию Ратник, р-7©i¹².

Восстановители фертильности LHR-1 и HWFR-1 для цитоплазмы типа *polima* были созданы на основе источника генов Rf, предоставленного канадским селекционером Р. В. Е. McVetty. Сложность при создании восстановителей заключалась в том, что источник генов восстановления являлся озимой формой с содержанием эруковой кислоты в масле 7,66% и более, 2,75% глюкозинолатов в семенах [4, 5]. Обе линии с геномом RfRf обладали стабильной восстановительной способностью. Восстановитель фертильности RGR-1 для цитоплазмы типа *ogura* выделили из коллекционного материала.

Созданные нами стерильные линии и восстановители фертильности оценивали по ряду селекционно ценных характеристик, а позднее провели оценку продуктивности восстановленных гибридов, созданных на их основе. Стерильные линии размножали двумя способами: в групповых сетчатых изоляторах и в изоляторах при ручном опылении, закрепителем стерильности.

Результаты и их обсуждение

В групповых сетчатых изоляторах продуктивность линии LCS-4 была на уровне закрепителя стерильности (линия В) во все годы испытаний (табл. 1). Линия LHS-1 показала более низкую продуктивность в сравнении с Ратником, р-©i¹² только в 2013 г.

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

Остальные образцы уступали по продуктивности закрепителю стерильности. Средняя продуктивность линий на цитоплазме *ogura* была несколько выше по сравнению с *polima*, однако достоверных различий между отдельными линиями не выявлено.

Таблица 1. Продуктивность стерильных линий ярового рапса в групповых сетчатых изоляторах, г/м²

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	<i>polima</i>	81,3	51,3	70,7	67,7	67,7 ± 12,4
LHS-1	<i>polima</i>	84,3	54,0	71,7	69,0	69,7 ± 12,4
LMS-1	<i>polima</i>	82,3	53,3	70,0	67,7	68,3 ± 11,9
LCS-2	<i>ogura</i>	82,3	54,0	70,0	68,3	68,6 ± 11,6
LCS-4	<i>ogura</i>	84,7	55,0	73,0	70,7	70,8 ± 12,2
LNS-1	<i>ogura</i>	81,0	51,3	71,0	67,7	67,7 ± 12,3
Среднее	<i>polima</i>	82,6	52,9	70,8	68,1	68,6 ± 12,2
Среднее	<i>ogura</i>	82,7	53,4	71,3	68,9	69,1 ± 12,1
Ратник р-©i12(В)		86,0	58,7	74,3	72,0	72,7 ± 11,2
НСР05		3,92	3,98	3,45	3,94	3,85

Во время испытаний стерильных линий при свободном опылении отмечен меньший разрыв по продуктивности между стерильными линиями (А) и закрепителем стерильности (В) (табл. 2).

Таблица 2. Продуктивность стерильных линий ярового рапса при свободном опылении, г/м²

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	<i>polima</i>	82,0	61,3	77,7	78,3	74,8 ± 9,2
LHS-1	<i>polima</i>	84,0	61,3	79,0	80,3	76,1 ± 10,1
LMS-1	<i>polima</i>	82,3	60,7	78,3	79,3	75,1 ± 9,8
LCS-2	<i>ogura</i>	82,0	61,0	78,0	79,7	75,1 ± 9,6
LCS-4	<i>ogura</i>	84,3	62,7	80,3	80,7	77,0 ± 9,7
LNS-1	<i>ogura</i>	81,3	60,0	77,7	78,7	74,4 ± 9,7
Среднее	<i>polima</i>	82,8	61,1	78,3	79,3	75,4 ± 9,7
Среднее	<i>ogura</i>	82,5	60,9	79,7	80,6	75,9 ± 10,1
Ратник р-©i12(В)		85,7	63,0	81,0	82,3	78,0 ± 10,2
НСР05		3,79	3,87	3,41	3,86	3,73

Энергия прорастания семян, полученных в групповых сетчатых изоляторах, была высокой во все годы исследований (табл. 3). Самые низкие показатели отмечены у семян, выращенных в неблагоприятном по погодным условиям 2013 г. Тип стерильной цитоплазмы не оказал существенного влияния на этот показатель.

Таблица 3. Энергия прорастания семян, полученных в групповых сетчатых изоляторах, %

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	<i>polima</i>	93,2	91,2	95,7	96,7	94,2 ± 2,5
LHS-1	<i>polima</i>	94,0	92,2	95,0	96,0	94,3 ± 1,6
LMS-1	<i>polima</i>	92,2	90,2	95,5	96,5	93,6 ± 2,9
LCS-2	<i>ogura</i>	89,0	87,0	95,5	96,5	92,0 ± 4,7
LCS-4	<i>ogura</i>	93,2	91,2	96,0	97,0	94,3 ± 2,6
LNS-1	<i>ogura</i>	91,7	89,7	96,5	97,5	93,8 ± 3,7
Ратник р-©i12(В)		92,5	91,5	97,7	98,7	95,1 ± 3,6
НСР05		2,83	2,77	1,31	3,12	2,50

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

Энергия прорастания семян, полученных при ручном опылении, также была высокой во все годы исследований для двух типов ЦМС (табл. 4).

Таблица 4. Энергия прорастания семян, полученных при ручном опылении, %

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	polima	96,0	94,2	97,2	98,2	96,4 ± 1,7
LHS-1	polima	97,2	95,2	97,0	98,0	96,8 ± 1,2
LMS-1	polima	95,0	93,0	95,5	96,5	95,0 ± 1,5
LCS-2	ogura	94,2	92,5	95,5	96,5	94,7 ± 1,7
LCS-4	ogura	95,7	93,7	96,7	97,7	95,9 ± 1,7
LNS-1	ogura	95,2	93,5	96,5	97,5	95,7 ± 1,7
Ратник р-©i12(B)		93,7	92,7	95,7	96,7	94,7 ± 1,8
НСР05		1,76	1,59	1,72	1,73	1,70

Всхожесть семян, полученных в групповых сетчатых изоляторах, была стабильно высокой во все годы исследований как для образцов с ЦМС типа *polima*, так и *ogura* (табл. 5). В 2013 г. этот показатель был несколько ниже.

Таблица 5. Всхожесть семян, полученных в групповых сетчатых изоляторах, %

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	polima	97,2	96,2	99,5	99,7	98,1 ± 1,7
LHS-1	polima	96,7	95,7	97,5	98,5	97,1 ± 1,2
LMS-1	polima	97,2	96,2	99,7	99,7	98,2 ± 1,8
LCS-2	ogura	96,2	95,2	99,7	99,7	97,7 ± 2,3
LCS-4	ogura	96,2	95,2	97,7	98,5	96,9 ± 1,5
LNS-1	ogura	98,5	97,5	99,5	99,5	98,7 ± 1,0
Ратник р-©i12(B)		97,5	96,5	100,0	100,0	98,5 ± 1,8
НСР05		2,11	2,06	1,64	1,51	1,83

Всхожесть семян, полученных при ручном опылении, была высокой во все годы проведения исследований (табл. 6). Процент всхожих семян не зависел от типа стерильной цитоплазмы.

Таблица 6. Всхожесть семян, полученных при ручном опылении, %

Стерильная линия (А)	Тип стерильности	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
АМсW	polima	97,7	97,0	99,0	99,0	98,17 ± 0,99
LHS-1	polima	99,0	98,0	97,7	100,0	98,67 ± 1,04
LMS-1	polima	98,5	97,0	99,5	99,7	98,67 ± 1,23
LCS-2	ogura	98,0	97,0	99,0	99,2	98,30 ± 1,01
LCS-4	ogura	98,2	97,2	99,2	99,5	98,52 ± 1,04
LNS-1	ogura	98,2	97,2	99,2	99,5	98,52 ± 1,04
Ратник р-©i12(B)		98,2	97,2	99,0	99,5	98,47 ± 1,00
НСР05		1,23	1,25	1,30	1,17	0,65

При анализе продуктивности восстановителей фертильности образец HWFR-1 имел достоверно более низкие показатели в сравнении с другими восстановителями и стандартом (табл. 7).

СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ НАУКИ

Таблица 7. Продуктивность линий-восстановителей фертильности, г/м²

Линия - восстановитель фертильности (R)	Тип стерильности	2013 г.	2014 г.	2015 г.	Среднее значение
LHR-1	polima	62,9	79,3	81,7	74,6 ± 10,2
HWFR-1	polima	59,8	76,3	78,7	71,6 ± 10,3
RGR-1	ogura	63,3	84,0	81,7	76,3 ± 11,3
Ратник, st		63,0	81,7	83,0	75,9 ± 11,2
НСР05		2,86	2,65	2,37	2,63

Созданные нами восстановленные гибриды F₁ существенно превысили по урожайности стандарт сорт Ратник (табл. 8). Достоверные различия отмечены между гибридами на стерильной цитоплазме типа *polima* и *ogura*. Гибридные комбинации между стерильными линиями типа *polima* с восстановителем LHR-1 отличались более высокой продуктивностью в сравнении с гибридами, опылителем у которых являлся образец HWFR-1.

Таблица 8. Продуктивность простых восстановленных гибридов F₁, г/м²

Гибрид	2013 г.		2014 г.		2015 г.		Среднее значение	
	г/м ²	%	г/м ²	%	г/м ²	%	г/м ²	%
AMcW × LHR-1	164,3	121,7	195,7	120,1	197,3	121,6	185,8	121,1
AMcW × HWFR-1	150,3	111,3	182,0	111,7	185,7	114,4	172,7	112,5
LHS-1 × LHR-1	164,3	121,7	201,0	123,3	198,7	122,4	188,0	122,5
LHS-1 × HWFR-1	155,0	114,8	186,7	114,5	182,3	112,3	174,7	113,9
LMS-1 × LHR-1	161,3	119,5	193,0	118,4	197,7	121,8	184,0	119,9
LMS-1 × HWFR-1	152,3	112,8	180,3	110,6	181,3	111,7	171,3	111,7
LCS-2 × RGR-1	174,7	129,4	203,7	125,0	204,7	126,1	194,4	126,8
LCS-4 × RGR-1	176,7	130,9	205,7	126,2	202,7	124,9	195,0	127,3
LNS-1 × RGR-1	169,3	125,4	205,3	126,0	200,3	123,4	191,6	124,9
Ратник, st	135,0	100,0	163,0	100,0	162,3	100,0	153,4	100,0
НСР05	4,30		4,77		4,88		4,65	

Превышение над стандартом в лучших вариантах составило 30,9% в 2013 г., 26,2% – в 2014 г. и 26,1% – в сезоне 2015 г.

Выводы

В изученном наборе стерильных линий не выявлено существенного влияния источника стерильной цитоплазмы на продуктивность изучаемых образцов. Фертильный закрепитель стерильности – линия В (Ратник р-©i¹²) в большинстве случаев превышал по продуктивности стерильные образцы.

Более высокую продуктивность стерильных линий при свободном опылении в сравнении с групповыми сетчатыми изоляторами можно объяснить отсутствием в изоляторах насекомых-опылителей, а также слабым переносом пыльцы на стерильные растения из-за недостаточного движения воздуха в изоляторах.

Биологически чистые семена с высокими посевными характеристиками можно выращивать в групповых сетчатых изоляторах при значительно меньших затратах труда и времени, чем при ручном опылении.

Восстановитель типа *polima* LHR-1 представляет практический интерес для создания гибридов на этом типе цитоплазмы.

Восстановитель фертильности цитоплазмы типа *ogura* RGR-1 дает более высокий гетерозисный эффект в сравнении с восстановителем типа *polima*.

Библиографический список

1. Анащенко А.В. Мужская стерильность у рапса / А.В. Анащенко, В.А. Гаврилова, А.Г. Дубовская // Растениеводство, селекция и генетика технических культур : сб. науч. тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Ленинград : ВНИИР, 1989. – Т. 125. – С. 86–91.
2. Боос Г.В. Гетерозис овощных культур / Г.В. Боос, Г.В. Бадина, В.И. Буренин. – Ленинград : Агропромиздат, 1990. – 218 с.
3. Горлов С.Л. Современные аспекты и тенденции развития производства и селекции рапса / С.Л. Горлов // Масличные культуры. – 2011. – № 2. – С. 51–56.
4. Карпачев В.В. Научное обоснование и результаты селекции рапса и тритикале в лесостепи Центрально-Черноземного региона : автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук : 06.01.05 / В.В. Карпачев. – Москва, 2005. – 33 с.
5. Карпачев В.В. Рапс яровой. Основы селекции : монография / В.В. Карпачев. – Липецк : ГНУ ВНИПТИ рапса, 2008. – 236 с.
6. Кильчевский А.В. Генетические основы селекции растений ; в 4 т. – Т. 1. Общая генетика растений ; науч. ред. А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева. – Минск : Белорус. наука, 2008. – 551 с.
7. Birchler J.A. Heterosis / J.A. Birchler, H. Yao, S. Chudalay, et al. // Plant Cell. – 2010. – Vol. 22. – P. 2105–2112.
8. Chuong P.V. The use of haploid protoplast fusion to combine cytoplasmic atrazine resistance and cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* / P.V. Chuong, W.D. Beversdorf, A.D. Powel, et al. // Plant. Cell. Tissue and Organ Culture. – 1988. – Vol. 12. – No. 2. – P. 180–185.
9. Fang G.H. Inheritance of male fertility restoration and allelism of restorer genes for the Polima cytoplasmic male sterility system in oilseed rape / G.H. Fang, P.B.E. McVetty // Genome. – 1989. – Vol. 32. – No. 6. – P. 1044–1047.
10. Fan Z. Maintainers and restorers for three male-sterility-inducing cytoplasmic in rape (*Brassica napus* L.) / Z. Fan, B.R. Stefansson, J.L. Sernyk // Canad. J. Plant Sci. – 1986. – Vol. 66. – P. 229–234.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Принадлежность к организации

Владимир Владимирович Карпачев – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. отделом селекции и семеноводства рапса ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса», Российская Федерация, г. Липецк, тел. 8(4742) 34-63-61, E-mail: vniirapsa@mail.ru.

Игорь Олегович Пастухов – аспирант, младший научный сотрудник лаборатории селекции и семеноводства рапса ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рапса», Российская Федерация, г. Липецк, E-mail: Pastuhov2009@rambler.ru.

Дата поступления в редакцию 04.09.2017

Дата принятия к печати 26.09.2017

AUTHOR CREDENTIALS
Affiliations

Vladimir V. Karpachev – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Corresponding Member of Russian Academy of Sciences, Head of the Dept. of Rapeseed Breeding and Farming, All-Russian Research Institute of Rapeseed, Russian Federation, Lipetsk, tel. 8(4742) 34-63-61, E-mail: vniirapsa@mail.ru.

Igor O. Pastukhov – Post-graduate Student, Junior Research Scientist, Rapeseed Breeding and Farming Laboratory, All-Russian Research Institute of Rapeseed, Russian Federation, Lipetsk, E-mail: Pastuhov2009@rambler.ru.

Date of receipt 04.09.2017

Date of admittance 26.09.2017