

ЗЕМЛЕДЕЛИЕ, СЕЛЕКЦИЯ, РАСТЕНИЕВОДСТВО

УДК 633.853.494:631.527.8

ОЦЕНКА КОЛЛЕКЦИИ И КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТИ СПОРОФИТА И ГАМЕТОФИТА РАПСА ОЗИМОГО

М. Г. КАЛИНОВА, И. Б. КОМАРОВА, Р. В. СЕНИК

Институт масличных культур НААН Украины,
пос. Солнечный, Украина, 69093, e-mail: kalinova222@gmail.com

(Поступила в редакцию 04.01.2020)

Цель работы – изучение устойчивости микрогаметофита и спорофита рапса озимого к воздействию низкотемпературного стресса. Исследовано влияние низких температур на жизнеспособность и длину первичных корешков семян (спорофита), а также жизнеспособность пыльцы и длину пыльцевых трубок рапса озимого. О холодоустойчивости образцов на обеих стадиях развития судили по степени снижения анализируемых показателей в опытных вариантах по сравнению с контролем. В качестве материала для исследований использовали 38 коллекционных сортов и сортообразцов. Первичная оценка на основании кластерного анализа с использованием объединения данных полным связыванием позволила выделить группу из 11 холодоустойчивых генотипов, которая предложена в качестве исходного селекционного материала на холодоустойчивость. По результатам эксперимента были определены коэффициенты корреляции между изученными признаками спорофита и микрогаметофита образцов озимого рапса под влиянием пониженной температуры. Наибольшая положительная корреляционная зависимость установлена между степенями снижения прорастания семян и длины первичного корешка ($r = 0.541 \pm 0.140$). Статистически значимой является корреляция между степенями снижения прорастания семян и прорастания пыльцы ($r = 0.318 \pm 0.158$). Существенными являются взаимозависимости между степенями снижения длины первичного корешка и прорастания пыльцы ($r = 0.353 \pm 0.156$ при $p = 0.029$), а также длины пыльцевых трубок ($r = 0.376 \pm 0.145$). Корреляция отсутствовала между показателями степени снижения длины пыльцевых трубок и прорастания семян ($r = 0.077 \pm 0.166$), а также прорастания пыльцы ($r = 0.234 \pm 0.162$). Таким образом, для отбора генотипов озимого рапса по признаку холодоустойчивости на ранних этапах развития целесообразно проводить оценку степени снижения под влиянием пониженных температур таких показателей как жизнеспособность семян, жизнеспособность пыльцы, длина первичного корешка.

Ключевые слова: рапс озимый, спорофит, гаметофит, степень снижения, семена, пыльца, корреляция.

The purpose of the work is to study the resistance of winter rape microgametophyte and sporophyte to the effects of low temperature stress. The effect of low temperatures on the viability and length of primary roots of seeds (sporophytes), as well as pollen viability and the length of pollen tubes of winter rape, was studied. The cold resistance of samples at both stages of development was estimated according to the degree of decrease in analyzed parameters in the experimental variants compared to the control. As a material for research, 38 collection varieties and samples were used. An initial assessment based on cluster analysis using complete binding of the data made it possible to distinguish a group of 11 cold-resistant genotypes, which was proposed as the initial selection material for cold resistance. According to the results of the experiment, the correlation coefficients between the studied traits of sporophyte and microgametophyte of winter rape samples under the influence of low temperature were determined. The highest positive correlation was found between the degrees of reduction in seed germination and the length of the primary root ($r = 0.541 \pm 0.140$). Statistically significant is the correlation between the degrees of reduction in seed germination and pollen germination ($r = 0.318 \pm 0.158$). Significant are the interdependencies between the degrees of reduction in the length of primary root and the germination of pollen ($r = 0.353 \pm 0.156$ at $p = 0.029$), as well as the length of pollen tubes ($r = 0.376 \pm 0.145$). There was no correlation between the degree of reduction in the length of pollen tubes and seed germination ($r = 0.077 \pm 0.166$), as well as pollen germination ($r = 0.234 \pm 0.162$). Thus, in order to select winter rapeseed genotypes based on cold resistance at the early stages of development, it is advisable to assess the degree of decrease under the influence of low temperatures of such indicators as seed viability, pollen viability, and the length of primary root.

Key words: winter rape, sporophyte, gametophyte, degree of reduction, seeds, pollen, correlation.

Введение

Одной из основных проблем селекции является распознавание ценных генотипов, обладающих не только высокой продуктивностью, но и устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам. Для первичной оценки больших популяций с целью выявления селекционно-ценных генотипов применяют экспресс-методы, позволяющие в короткий срок с минимальными материальными затратами

дифференцировать все оцениваемые сорта и образцы по устойчивости к стрессовому фактору. В многочисленных исследованиях на ряде культур были разработаны и предложены экспресс-методы оценки популяций на спорофитном уровне. В случае, когда оценка популяции на данной стадии развития растений усложнена рядом объективных причин, проводят скрининг холодоустойчивости генотипов на уровне микрогаметофита. Оценка по микрогаметофиту была также продемонстрирована многочисленными исследованиями резистентности разных культур к абиотическим и биотическим факторам. Возможность её проведения обусловлена наличием положительной корреляции устойчивости спорофита и гаметофита к стрессовому фактору. Данный факт объясняется экспрессией генов, контролирующей стрессоустойчивость как на гаплоидном, так и на диплоидном уровне развития растений [1–5].

Целью нашей работы было изучение устойчивости гаметофита и спорофита рапса озимого к воздействию низкотемпературного стресса и корреляционный анализ холодоустойчивости на обеих стадиях развития растений (спорофит, гаметофит).

В качестве материала для исследований использовали 38 коллекционных сортов и сортообразцов рапса озимого. Оценка холодоустойчивости спорофитного поколения проводили лабораторным методом на ранних этапах онтогенеза. Для чего семена исследуемых сортов и образцов раскладывали на увлажненной фильтровальной бумаге в чашках Петри, выдерживали в термостате до набухания семян, затем опытные варианты промораживали при температуре $-6\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 4 часов и после этого проращивали в термостате при температуре $24\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 2 суток, контрольные варианты не промораживали. В эксперименте учитывали жизнеспособность семян, а также длину первичных корешков.

Оценку холодоустойчивости коллекционных сортов и сортообразцов на микрогаметофитном уровне проводили методом проращивания пыльцы в питательной среде в условиях действия стрессового фактора. Свежесобранную пыльцу равномерно распределяли в 2–3 каплях питательной среды на предметном стекле, которое укладывали на увлажненную фильтровальную бумагу в чашки Петри и затем проращивали при температуре $+3\pm 1^\circ\text{C}$ в течение суток (опытный вариант). Пыльцу контрольных вариантов проращивали при температуре $24\pm 1^\circ\text{C}$ в течение 2 часов. В эксперименте учитывали жизнеспособность пыльцы, а также длину пыльцевых трубок.

О холодоустойчивости сортов и сортообразцов на обеих стадиях развития судили по степени снижения анализируемых показателей в опытных вариантах по сравнению с контролем. В табл. 1 представлены статистические результаты проведенного исследования.

Таблица 1. Статистические показатели результатов проращивания пыльцы и семян рапса озимого в условиях пониженной температуры

Показатель	Степень снижения, %			
	Спорофит		Гаметофит	
	прорастания семян	длины первичного корешка	прорастания пыльцы	длина пыльцевых трубок
Минимальное значение x_{\min}	24,5	5,9	55,8	13,3
Среднее арифметическое значение x_{mid}	69,2	43,0	86,8	42,3
Максимальное значение x_{max}	100,0	100,0	99,0	82,8
Количество замеров n , шт.	38	38	38	38
Среднеквадратическое отклонение s	20,4	23,3	10,7	17,3
Доверительная ошибка среднего	6,7	7,7	3,5	5,7
Коэффициент вариации V , %	29,5	54,1	12,3	41,0
Ошибка коэффициента вариации, sv , %	3,4	6,2	1,4	4,7

По результатам оценки показателей все сорта и сортообразцы коллекции как на уровне спорофита, так и гаметофита, были дифференцированы по устойчивости к низким температурам. Для разделения по холодоустойчивости общей выборки на группы был проведен кластерный анализ с использованием объединения данных полным связыванием, который позволил выделить селекционно-ценные сорта и образцы с максимальной холодоустойчивостью (рисунок).

По данным кластерного анализа в группу с максимальной холодоустойчивостью как по гаметофиту, так и по спорофиту были включены сорта и сортообразцы с минимальной степенью снижения показателей в опытных вариантах по сравнению с контролем. На рисунке они располагаются от сорта Корнет до сорта Антария и включают 11 генотипов. Данная группа может служить исходным селекционным материалом для создания холодоустойчивых сортов и гибридов рапса озимого.

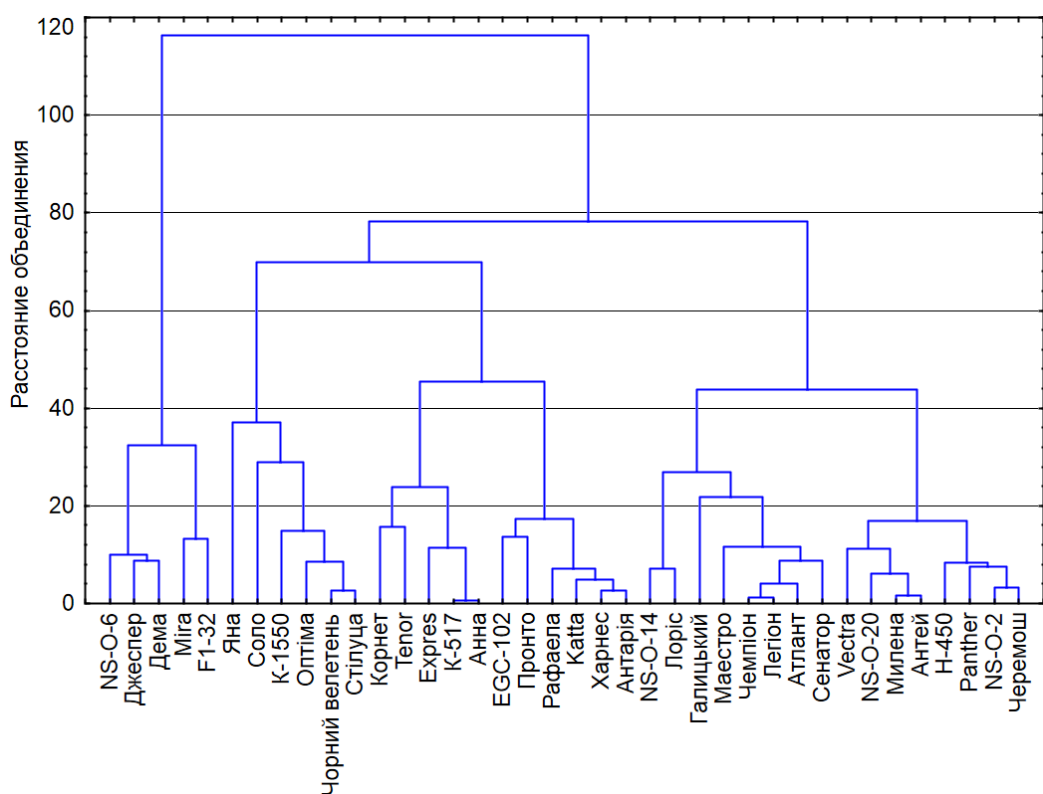


Рис. Дендрограмма распределения по холодоустойчивости образцов рапса озимого на стадии спорофита согласно результатам кластерного анализа

Таким образом, первичная оценка коллекции рапса озимого на стадии спорофита и гаметофита позволила дифференцировать сорта и образцы по устойчивости к низкотемпературному стрессу, выделить из коллекции максимально холодостойкие и предложить их в качестве исходного селекционного материала.

Для проведения корреляционного анализа сравнивали степень снижения анализируемых показателей в опытных вариантах по сравнению с контролем спорофита и гаметофита.

Полученные результаты были проанализированы на корреляционную зависимость. При этом в случае нормального распределения на взаимную линейную корреляционную зависимость (корреляцию Пирсона), которая указывает на тесноту и направление связи X с Y , и оценивается коэффициентом корреляции r ; при ненормальном распределении данных исследуемой выборки связь между факторами определяется криволинейным коэффициентом ранговой корреляции – Спирмена. Значения коэффициентов корреляции Пирсона и Спирмена представлены с указанием эмпирического уровня значимости p . Статистически значимые результаты приведены жирным шрифтом. Линейные корреляции Пирсона приведены прямым шрифтом, а криволинейные Спирмена – курсивом. В табл. 2 представлены результаты определения корреляционных зависимостей между степенью снижения исследуемых признаков под влиянием пониженных температур.

Таблица 2 Матрица корреляционных зависимостей степени снижения изученных показателей под влиянием сниженных температур

Источник вариации		Степень снижения					
		прорастания семян		длины первичного корешка		прорастания пыльцы	
		значение	доверительная ошибка	значение	доверительная ошибка	значение	доверительная ошибка
Степень снижения	длины первичного корешка	0,541	0,140	1			
		4,516E-04					
	прорастания пыльцы	0,318	0,158	0,353	0,156	1	
		0,048		0,029			
	длины пыльцевых трубок	0,077	0,166	0,376	0,154	0,234	0,162
		0,646		0,020		0,157	

Из анализа табл. 2 видно, что связи между изученными показателями существуют, и они позитивные. Наибольшая положительная корреляционная зависимость установлена между степенями снижения прорастания семян и длины первичного корешка ($\rho = 0,541 \pm 0,140$ при $p = 4,516E-04$). Статисти-

чески значимой является корреляция между степенями снижения прорастания семян и прорастания пыльцы ($r = 0,318 \pm 0,158$ при $p = 0,048$). Существенными являются взаимозависимости между степенями снижения длины первичного корешка и прорастания пыльцы ($r = 0,353 \pm 0,156$ при $p = 0,029$), а также длины пыльцевых трубок ($r = 0,376 \pm 0,145$ при $p = 0,020$). Корреляция отсутствовала между показателями степени снижения длины пыльцевых трубок и прорастания семян ($r = 0,077 \pm 0,166$ при $p = 0,646$), а также прорастания пыльцы ($r = 0,234 \pm 0,162$ при $p = 0,157$).

Таким образом, для отбора генотипов озимого рапса по признаку холодоустойчивости на ранних этапах развития целесообразно проводить оценку степени снижения под влиянием пониженных температур таких показателей как жизнеспособность семян, жизнеспособность пыльцы, длина первичного корешка.

Заключение

Проведение первичной оценки холодоустойчивости коллекционных сортов и сортообразцов рапса озимого на диплоидной и гаплоидной стадии развития позволило дифференцировать их по устойчивости к низким температурам. По наименьшей степени снижения анализируемых показателей как спорофита, так и гаметофита была выделена группа с максимальной холодоустойчивостью, которая будет использована в дальнейших селекционных исследованиях.

Обнаружена положительная корреляционная зависимость между устойчивостью к низким температурам спорофита и гаметофита коллекционных сортов и сортообразцов рапса озимого, что свидетельствует о наличии генов холодоустойчивости, экспрессирующихся как на диплоидной, так и на гаплоидной фазе развития.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бут, Н. Н. Оценка селекционного материала и выделение генисточников для создания новых сортов фасоли овощной / Н. Н. Бут // Сборник трудов IX всероссийской конф. мол. ученых «Научное обеспечение АПК» 24-26 ноября 2015г. ФГБНУ ВНИИ риса С.- 449-450
2. Брыль, Е. А. Использование микрогаметофитного отбора для дифференцировки генотипов люпина по устойчивости к контрастным температурам / Е. А. Брыль, И. Б. Саук, В. С. Анохина // Материалы Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века. Фундаментальные и прикладные аспекты» 2008. – Минск: БГУ, 2008. – С. 51–53.
3. Ніконова, В. М. Мікрогаметофітний добір на стійкість до фузаріозу у рицини: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / Ніконова Валентина Миколаївна. –К., 2008. – 20 с.
4. Юрлова, Е. В. Оценка томатов на устойчивость к нерегулируемым абиотическим факторам с использованием признаков гаметофитного и спорофитного поколений автореф. дис... канд. с.-х. наук: спец. 06.01.05 «Селекция и семеноводство» / Е. В. Юрлова. – Новосибирск, 2006. – 20 с.
5. Кильчевский, А. В. Изучение корреляционных связей между признаками спорофита и гаметофита томата в диалельных скрещиваниях / А.В. Кильчевский, Н.Ю. Антропенко, И.Г. Пугачева // Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур. М.: ВНИИССОК. – 2005. – Т. 2. – С. 150–152.