

СЕЛЕКЦИЯ НА СОЗДАНИЕ ГЕТЕРОЗИСНЫХ ГИБРИДОВ РАПСА ОЗИМОГО НА ОСНОВЕ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ

С. П. ВИШНЯКОВА

Типичным примером гетерозисных растений является рапс, который не обнаружен в дикой природе. По своей природе он является естественным амфидиплоидом, его гибридное происхождение является результатом спонтанного скрещивания капусты и колы. Капуста (2n – 18, cc genome) × Brassica napus (2n – 20 aa genome) – капуста рапс с аасс генетической формулой (2n – 38). Рапс, как растение-стебель, значительно повышает продуктивность с количеством первого и второго порядка стрел, что связано с интенсификацией процесса роста и способствует значительной манифестации гетерозиса. Рапс является опциональным самоопылителем; степень перекрестного опыления зависит от условий окружающей среды и колеблется от 15 до 45%. Поэтому, чтобы получить 100% гибридную чистоту семян, важно иметь эффективный способ устранения самоопыления. В статье представлены результаты исследования по созданию исходного материала для селекции гибридов зимнего рапса с использованием мужской цитоплазматической стерильности. Исследования проводились в 2015–2017 гг. на базе Института кормов и сельского хозяйства Подолья Национальной академии наук Украины, и в соответствии с агроклиматическими показателями, поля Института кормов и сельского хозяйства относятся к зоне достаточной влажности. В исследовании использовался материал отбора местного и иностранного происхождения. Целью нашей работы было создание исходного материала для селекции гибридов зимнего рапса на основе цитоплазматической мужской стерильности типа cms ogura. Полученные гибриды зимнего рапса на основе цитоплазматической мужской стерильности имели манифестацию гетерозиса в диапазоне 65–71%, что является перспективным показателем при селекции на гетерозис. Было обнаружено, что целесообразно проводить отбор плодородных растений, начиная с F₁ гибридов, что является необходимым условием для ускорения процесса создания гетерозисных гибридов.

Ключевые слова: рапс, гибриды, цитоплазматическая мужская стерильность (CMS), гетерозис, продуктивность семян, показатели качества масла.

A typical example of heterosis plants is rape, which has not been detected in the wild. By its nature, it is a natural amphidiploid, its hybrid origin is the result of spontaneous crossbreeding of cabbage and colza. Brassica oleracea cabbage (2n – 18, cc genome) × Brassica napus (2n – 20 aa genome) – brassica napus rape with the aass genetic formula (2n – 38). Rapeseed, as a stem plant, significantly changes productivity with the number of first and second order shoots, which is associated with an intensification of the growth process and contributes to a significant manifestation of heterosis. Rapeseed is an optional self-pollinator; the degree of cross-pollination depends on environmental conditions and ranges from 15 to 45%. Therefore, to obtain 100 % seed hybridity, it is important to have an effective way of eliminating self-pollination. The paper presents the results of a study on the creation of source material for the selection of winter rapeseed hybrids using male cytoplasmic sterility. The studies were conducted in 2015–2017 on the basis of the Institute of Feed and Agriculture of the Podillia of the National Academy of Sciences of Ukraine, and according to agroclimatic indicators, the fields of the Institute of Feed and Agriculture belong to the zone of sufficient moisture supply. In the research, breeding material of domestic and foreign selection was used. The aim of our work was to create the source material for the selection of winter rapeseed hybrids based on cytoplasmic male sterility of the cms ogura type. The obtained hybrids of winter rape based on cytoplasmic male sterility had a manifestation of heterosis in the range of 65–71 %, which is a promising indicator in breeding for heterosis. It was found that it is advisable to carry out selection of fertile plants, starting with F₁ hybrids, which is a prerequisite for accelerating the process of creating heterotic hybrids.

Key words: winter rape, hybrids, cytoplasmic male sterility (CMS), heterosis, seed productivity, oil quality indicators.

Введение

Чтобы получать большие и стабильные урожаи рапса озимого, нужно в полной мере использовать эффект гетерозиса, проявление которого самое высокое у гибридов первого поколения при условии полного опыления материнских цветков пыльцой мужских растений.

До открытия мужской стерильности этой цели добивались ручным удалением пыльников растений материнской формы на подходящих для этого культурах, таких как кукуруза. Что касается рапса, из-за особенностей цветения и строения цветка ручная кастрация может быть использована у этой культуры только с селекционной целью. Открытие цитоплазматической мужской стерильности значительно удешевило процесс производства семян, поскольку при гибридизации принимает участие стерильный материнский компонент, что исключает необходимость кастрации [7, 8].

Основная часть

Исследования проводились в селекционном севообороте Института кормов и сельского хозяйства Подолья НААН Украины. Почва по агрохимической характеристике относится к серым оподзоленным среднесуглинистым почвам, содержание гумуса 2,0 % в пахотном слое 0–30 см. С содержанием азота 9,6 мг/100 г, фосфора – 13,0 мг/100 г, кальция – 11,5 мг/100 г, реакция почвенного раствора Р_н – 5,5.

По агроклиматическим показателям территория полей Института кормов и сельского хозяйства Подолья НААН Украины относится к зоне достаточного влагообеспечения. Ближайшая метеостанция находится в г. Винница. Метеорологические условия представлены в табл. 1. Во время вегетации рапса озимого проводились фенологические наблюдения за процессами роста и развития растений, отмечались фазы: полные всходы, образование листьев, розетки, образование боковых побегов, бутонизации, образования соцветия, начало и окончание цветения. Использовался селекционный материал коллекции Института кормов и сельского хозяйства Подолья отечественной и зарубежной селекции: Антария, Чёрный Велетень, Гипанис, Горизонт, Вотан, Лираджет, НПЦ 9800, Либя, Атаман, Данте, Дар ланов, livins, Барос, Алигатор, Свиточ, Арт 1, Форте, Викинг, Диана, Винер, Висби, Нельсон, рг45д03, Атлант, п145а01. Всего было использовано 52 генотипа рапса озимого, которые участвовали в 2014–2017 годах как опылители формы с цитоплазматической мужской стерильностью.

Таблица 1. Среднегодовая температура воздуха, количество осадков в годы проведения исследований

Период	Месяц											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
Сумма осадков, мм												
2014–2015 гг.	47	32	30	43	20	32	19	42	37	34	36	15
2015–2016 гг.	4	35	46	54	14	35	50	19	30	54	52	43
2016–2017 гг.	31	3	63	52	36	28	39	63	40	28	20	50
Ср. м.-л.	68,0	46,0	38,0	42,0	44,0	40,0	38,0	35,0	49,0	63,0	87,0	92,0
Сумма температур, °С												
период	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
2014–2015 гг.	20,0	14,5	7,1	1,4	-2,1	-1,1	-1,3	4,0	8,5	15,3	19,3	21,2
2015–2016 гг.	21,2	17,0	7,1	4,2	1,7	-5,2	2,2	4,0	11,8	14,2	19,4	20,8
2016–2017 гг.	19,9	15,9	5,8	1,1	-2,1	-5,8	-3,1	5,7	9,2	13,9	19,1	19,9
Ср. м.-л.	17,7	13,4	7,7	1,9	-2,5	-5,8	-4,3	0,2	8,0	14,1	17,1	18,3

Урожай учитывался методом общего обмолота, содержание масла в семенах определялось на компьютерном анализаторе – artek nir scanner model 4250, глюкозинолаты методом бумажного глюкотеста, эруковая кислота – методом помутнения нагретого до 70 °С раствора в этаноле (1:80) масла (0,1 мл) при резком его охлаждении (+21 °С).

Создание восстановителя основано на методе возвратных скрещиваний (бекроса). Найденный восстановитель фертильности опыляют пыльцой, нужных селекционеру линий или сорта. Также используют и самоопыление растений, полученных в результате скрещиваний гибридов F₁, из которых были выделены фертильные формы.

Одновременно со вторым бекросом каждое растение проверяют на восстановительную способность, опыляют её пыльцой стерильную форму, для которой создается восстановитель. Для следующих насыщений используют растения, которые дают в анализирующих скрещиваниях наибольший выход фертильных растений [9, 10, 11].

Оценка гибридов F₁ озимого рапса проводилась на 3-рядковых участках площадью 2,7 м² в окружении отцовской формы в четырёх повторениях. Гибриды сравнивались по хозяйственно ценным признакам как с отцовской формой, так и сортом стандартом Чёрный Велетень.

Работа по гетерозисной селекции проводилась с использованием формы озимого рапса с мужской цитоплазматической стерильностью. После проведения скрещиваний (2015 г.) стерильной формы рапса озимого с фертильными формами мы получили гибридные семена в 27 комбинациях, которые нами были высеяны в гибридном питомнике 2015 г., по классической схеме посева участков гибридизации 2:1, учитывающих биологические особенности цветения рапса и его опыления. Во время цветения в 2016 году на посевах гибридов F₁ была проведена идентификация растений, которые имели стерильные цветки, а также растения с фертильными цветами. Показатели стерильности у гибридов F₁ представлены в табл. 2.

После созревания растения со стерильным типом цветения собирались и обмолачивались отдельно от растений с фертильным типом цветения. При проведении анализа семян на содержание глюкозинолатов и эруковой кислоты, а также показателей урожайности были выделены лучшие комбинации, на базе которых будет проводиться создание закрепителя стерильности и восстановителя фертильности: ♀ (цмс) × ♂ (нпц 9800 × Лираджет), ♀ (цмс) × ♂ отбор Арт 1, ♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins), ♀ (цмс) × ♂ (Livins × Барос), ♀ (цмс) × ♂ отбор Антария и комбинаций ♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Либя), ♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins).

Учет урожая гибридов первого поколения 2016 года в сравнении с урожаем родительской формы (p) и стандартом () показал, что, как правило, гибриды рапса характеризуются гетерозисом и значительно превышают по урожаю как родительскую форму, так и стандарт.

По показателям урожайности, содержания эруковой кислоты, глюкозинолатов из 25 комбинаций 2016 году выделались комбинации, которые превысили по урожайности сорт стандарт Чёрный Велетень и свою родительскую форму: 3♀ (цмс) × ♂ (нпц 9800 × Лираджет), 11♀ (цмс) × ♂ отбор Арт 1, 12♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins), 13♀ (цмс) × ♂ (Livins × Барос), 14♀ (цмс) × ♂ отбор Антария, 18♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Либя), 22♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins). Результаты урожая и качественные показатели масла гибридов первого поколения 2016 представлены в табл. 2.

Таблица 2. Урожайность семян и качество масла гибридов озимого рапса (F₁), показатели проявления признака стерильности селекционных номеров (2016)

Наименование	Урожайность т/га	В сравнении с отцовской формой (p) т/га	В сравнении с стандартом () т/га	Эруковая кислота %	Глюкозинолатов мкмоль/г	Процент стерильности, %
Ст Чёрный Велетень	4,82	–	–	0,25	4,8	0
1.♀ (цмс) × ♂ Антария	7,02	2,25	2,20	1,9	9,6	92
2.♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Лираджет)	7,71	0,18	2,89	2,1	4,8	100
3.♀ (цмс) × ♂ (нпц 9800 × Лираджет)	7,52	2,24	2,70	0,1	4,2	90
4.♀ (цмс) × ♂ Чёрный Велетень	2,70	-2,15	-2,12	1,6	1,2	100
5.♀ (цмс) × ♂ (Либя × Лираджет)	2,22	-3,35	-2,60	3,1	12,0	95
6.♀ (цмс) × ♂ (отбор Чёрный Велетень × Атаман)	3,57	-1,41	-1,25	17,1	3,4	100
7.♀ (цмс) × ♂ (Данте × Дар ланов)	5,59	0	0,77	1,9	7,2	64
8.♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Livins)	3,10	-1,68	-1,72	1,3	2,4	97
9.♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Либя)	5,61	-2,00	0,79	2,6	2,4	100
10.♀ (цмс) × ♂ (нпц 9800 × Вотан)	7,31	-1,11	2,49	4,6	4,8	92
11.♀ (цмс) × ♂ отбор Арт 1	4,92	0,42	0,1	0,0	4,8	97
12.♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins)	7,33	0,62	2,51	0,1	9,6	97
13.♀ (цмс) × ♂ (Livins × Барос)	7,81	0,58	2,99	0,1	2,4	75
14.♀ (цмс) × ♂ отбор Антария	7,12	1,90	2,30	0,4	4,8	88
15.♀ (цмс) × ♂ отбор Чёрный Велетень	7,39	1,61	2,57	1,5	9,6	86
16.♀ (цмс) × ♂ (Дар ланов × Алигатор)	8,72	4,37	3,90	4,0	2,4	100
17.♀ (цмс) × ♂ Гипанис	7,91	4,04	3,09	2,0	9,6	96
18.♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Либя)	8,10	0,30	3,28	0,0	12,0	100
19.♀ (цмс) × ♂ отбор Горизонт	5,20	-2,42	0,38	6,0	12,0	50
20.♀ (цмс) × ♂ (Лираджет × Свиточ)	1,70	-4,20	-3,12	0,5	12,0	80
21.♀ (цмс) × ♂ отбор (Лираджет × Либя)	5,10	0,15	0,28	2,0	12,0	100
22.♀ (цмс) × ♂ (Вотан × Livins)	9,10	2,90	4,28	0,0	2,4	100
23.♀ (цмс) × ♂ (Либя × Свиточ)	1,70	-4,15	-3,12	1,5	0,0	100
24.♀ (цмс) × ♂ (Чёрный Велетень × Атаман)	1,10	-6,00	-3,72	4,0	12,0	100
25.♀ (цмс) × ♂ (Амор × Чёрный Велетень)	–	–	–	–	–	–
26.♀ (цмс) × ♂ (Алигатор × Дар ланов)	–	–	–	–	–	–
27.♀ (цмс) × ♂ (Атлант × Алигатор)	3,00	-2,55	-1,82	1,5	12,0	50
НСР ₀₅	0,03					

В 2017 году в исследованиях проявления гетерозиса и при создании на их основе высокогетерозисных гибридов с использованием (цмс) были использованы 19 новых гибридов и 7 лучших 2016 года. При этом отдельно высевались семена, полученные от стерильных растений в окружении родительской формы, и отдельно высевались семена полученные от фертильных растений. Во время цветения на участках велся подсчет количества стерильных и фертильных растений и проводилась гибридизация. Результаты урожайность и качественные показатели представлены в табл. 3.

Показатели 2017 года в сравнении с урожаем родительской формы и стандартом свидетельствуют, что гибриды рапса характеризуются гетерозисом и значительно превышают по урожаю как родительскую форму, так и сорт-стандарт.

Таблица 3. Урожайность и качественные показатели масла гибридов озимого рапса (*F₁*), показатели проявления признака стерильности селекционных номеров (2017)

Наименование	Урожайность т/га	В сравнении с отцовской формой (р) т/га	В сравнении с стандартом () т/га	Эруковая кислота %	Глюкозинолатов мкмоль/г.	Процент стерильности, %
1 st Чорный Велетень	4,78	–	–	0,0	2,4	0
2 (цмс) × (Свиточ×Атаман)	4,94	0,24	0,16	0,1	2,4	97
3 (цмс) × (Дар ланов ×Ливинс)	6,26	0,05	1,48	4,1	9,6	92
4 (цмс) × (Форте×Барос)	4,55	0,32	-0,23	4,0	4,8	100
5 (цмс) × (Форте×Чёрный Велетень)	5,11	1,34	0,33	0,1	12,0	100
6 (цмс) × (Лираджет×Дар ланов)	5,23	0,12	0,45	0,4	4,8	100
7 (цмс) × (Викинг×Алигатор)	5,83	0,18	1,05	2,1	4,8	65
8 (цмс) × (Дар ланов × Чёрный Велетень)	4,22	0,42	-0,56	3,6	4,8	90
9 (цмс) × (Либея×Ливинс)	3,77	-0,11	-1,01	3,5	4,8	10
10 (цмс) × ((Диана ×Свиточ)×(Б×Диана))	5,21	0,18	0,43	0,0	2,4	97
11 (цмс) × (Винер×Алигатор)	3,63	0,30	-1,15	13,0	2,4	77
12(цмс) × ((Либея×Свиточ)×(Горизонт×л184))	5,87	1,01	1,09	6,6	9,6	55
13 (цмс) × ((Викинг×Алигатор)×Висби)	6,97	1,64	2,19	3,3	4,8	90
14 (цмс) × ((Чёрный Велетень×Горизонт)×Данте)	6,85	1,51	2,07	0,0	9,6	82
15 (цмс) × (Нельсон×Горизонт)	6,76	1,66	1,98	0,1	0,6	81
16 (цмс) × (р45д03×Горизонт)	5,11	0,78	0,33	1,9	9,6	100
17 (цмс) × ((Горизонт×л184)×Дар ланов)	5,67	0,56	0,89	0,2	12,0	94
18 (цмс) × (Атлант×Горизонт)	6,43	2,34	1,65	0,0	0,0	98
19 (цмс) × (Форте×Свиточ)	4,24	1,05	-0,54	2,5	4,8	93
20 (цмс) × ((Атлант×Алигатор)×п145а01)	4,87	0,43	0,09	6,9	12,0	97
21 (цмс) × (нпц 9800×Лираджет)	6,73	2,49	1,95	0,4	12,0	91
22 (цмс) × Арт1	4,82	0,17	0,04	0,0	4,8	97
23 (цмс) × (Вотан×Ливинс)	6,11	0,99	1,33	0,4	9,6	98
24 (цмс) × Ливинс×Барос	6,80	0,60	2,02	0,2	4,8	97
25 (цмс) × отбор Антария	6,74	1,03	1,96	0,4	2,4	83
26 (цмс) × (Лираджет×Либея)	7,06	0,56	2,28	0,4	2,4	97
27 (цмс) × (Вотан×Ливинс)	7,78	2,06	3,00	0,0	0,0	94
Цмс Горизонт стерильный	–	–	–	–	–	82
Цмс Горизонт стерильный	–	–	–	–	–	67
Цмс Горизонт стерильный	–	–	–	–	–	73
Цмс Горизонт стерильный	–	–	–	–	–	87
Цмс Антария стерильный	–	–	–	–	–	86
Цмс Антария стерильный	–	–	–	–	–	100
Цмс Антария стерильный	–	–	–	–	–	75
Цмс Антария стерильный	–	–	–	–	–	100
Цмс Антария фертильна	–	–	–	–	–	20
Цмс отбор Антария стерильный	–	–	–	–	–	100
Цмс отбор Антария фертильна	–	–	–	–	–	50
Цмс Арт1 стерильный	–	–	–	–	–	94
Цмс Арт1 фертильный	–	–	–	–	–	20
Цмс (Ливинс×Барос) стерильный	–	–	–	–	–	83
Цмс (Лираджет×Либея) стерильный	–	–	–	–	–	85
Цмс (нпц 9800×Лираджет) стерильный	–	–	–	–	–	96
Цмс (нпц 9800×Лираджет) фертильный	–	–	–	–	–	10
Цмс (Вотан×Ливинс) стерильный	–	–	–	–	–	87
Цмс (Вотан×Ливинс) фертильный	–	–	–	–	–	35
Цмс (Вотан×Ливинс) фертильный	–	–	–	–	–	33
Цмс (Вотан×Ливинс) фертильный	–	–	–	–	–	25
НСР ₀₅	0,03					

Результаты двухлетнего изучения проявления гетерозиса у гибридов на основе (цмс): 2016 общая средняя урожайность составила 7,41 т/га, что на 2,59 т/га превысило стандарт. В 2017 году указанные комбинации показали в среднем урожайность 6,58 т/га, что на 1,80 т/га выше стандарта. Проявление гетерозиса у гибридов озимого рапса в среднем за два года наблюдался в диапазоне 65–71 %, в то

время как для гибридов рапса озимого средним проявлением родительского гетерозиса является 50 %.

По представленным в табл. 3 результатам мы наблюдаем тенденцию, что на участках, где были высеяны семена из отобранных фертильных растений процент проявления признака стерильности не превышал 50 %, а в среднем 29 %. Эти показатели расщеплений в линиях второго и третьего бекроса на стерильные и фертильные растения соответствуют стандартной моногенной модели 3:1 за исключением комбинации 38 цмс отбор антария. На участках, засеянных семенами стерильных растений, мы имеем динамику проявления признака стерильности. Наименьший процент проявления признака составил 83 %, а средний показатель – 91 %.

Заключение

Результаты исследований подтверждают моногенную природу восстановления фертильности гибридов озимого рапса. Моногенный тип восстановления является проявлением известного в мировой литературе идентифицированного гена *rf*, присутствующего в хромосоме редьки, интегрированного в геном рапса, который относится к типу *cms ogura*.

Полученные гибриды рапса озимого на основе цитоплазматической мужской стерильности имели проявление гетерозиса в диапазоне 65–71 %, что является перспективным показателем в селекции на гетерозис.

Выделено 6 линий-восстановителей фертильности для дальнейшей селекционной работы.

Установлено, что целесообразно проводить отбор фертильных растений, начиная с гибридов F_1 . Это является предпосылкой для ускорения процесса создания гетерозисных гибридов.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гайдаш, В. Д. Рапак: монографія / під. Ред. Гайдаша В. Д. – Ужгород: Сіверсія, 1998. – 374 с.
2. Song, K. Polyphyletic origins of *Brassica napus*: new evidence based on organelle and nuclear rflp analyses / Song, K. and T. C. Osborn. – genome 35: – 1992. – P. 992–1001.
3. Jack Brown. U. S. canola association canola growers manual / Jack Brown, Jim B. Davis, Mary Lauver and Don Wsocki – University of Idaho & Oregon State University. – July 2008 – p. 71.
4. Cytoplasmic male sterility and inter and intra subgenomic heterosis studies in brassica species: a review / journal of agricultural sciences – vol. 59, – no. 3, – 2014 – p. 207–226.
5. The biology of brassica napus L. (canola) [электронный ресурс] / Australian government office of gene technology visit version 2: february 2008 – p. 59. – access mode: <http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/canola>.
6. Рапс, сурепица / А. А. Гольцова [и др.]. – М.: Колос, 1983. – 192 с.
7. Селекція і насінництво сільськогосподарських рослин / М. Я. Молоцький [и др.]. – К.: 2006: Вища освіта. – 463 с.
8. 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 прикл. бот., ген. и сел. – Л.: ВНИИР, 1989. т. 125. – С. 86–91.
9. Ramsbottom J. E. Problems associated with registering hybrid rape varieties / Ramsbottom J. E., Jarman R. J., Kightley S. P. J. // proceedings of the 10th international rapeseed congress, 26–29 september, 1999. – Canberra, Australia. [электронный ресурс]: <http://www.regional.org.au/au/gcirc>.
10. Martin frauen breeding of hybrid varieties of winter oilseed rape based on the msl-system/ martin frauen, werner paulmann // proceedings of the 10th international rapeseed congress, 26–29 september, 1999. – Canberra, Australia. [электронный ресурс]: <http://www.regional.org.au/au/gcirc>.
11. Черненко, А. Д. Генетичний контроль гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності рапаку озимого / А. Д. Черненко, Ф. М. Парій. Збірник наукових праць уманського національного університету садівництва. – Умань, 2012. – Вип. 80. – ч. 1: Агрономія. – 204 с.