УДК 633.854.78:631.52

DOI 10.25230/2412–608X–2018–4–176–9–15

Создание новых материнских линий подсолнечника с короткими трубкообразными язычковыми цветками в качестве маркерного признака

С.В. Костевич,

кандидат сельскохозяйственных наук

Н.В. Медведева,

кандидат сельскохозяйственных наук

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17

E-mail: hybrid@vniimk.ru

Для цитирования: Костевич С.В., Медведева Н.В. Создание новых материнских линий подсолнечника с короткими трубкообразными язычковыми цветками в качестве маркерного признака // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – Вып. 4 (176). – С. 9–15.

Ключевые слова: подсолнечник, морфологический маркерный признак, материнская линия, генетическая чистота, эффективность семеноводства.

Использование в семеноводстве гибридного подсолнечника морфологических маркерных признаков позволяет добиться высокой генетической чистоты семенного материала, снизить трудозатраты на проведение сортовых прополок и повысить уровень защиты авторских прав на селекционные достижения. Несмотря на большое количество изученных морфологических маркерных признаков подсолнечника, наиболее желательны моногенные маркерные признаки. Основным требованием является отсутствие зависимости фенотипического проявления генетических маркеров от агротехники и факторов среды. Один из таких признаков, обусловленный рецессивным геном *ft*, – признак трубкообразных язычковых цветков подсолнечника, который использован в качестве маркерного в нашей селекционной программе. Взяв в качестве источника данного признака линию ВК 860 из коллекции лаборатории, удалось создать группу новых линий. Среди них: скороспелые (Сл₁₆ 1702, Сл₁₆ 1703, Сл₁₆ 1737), с периодом от всходов до начала цветения 45–48 суток, и среднераннеспелые (Сл₁₆

1704, Сл₁₆ 1707, Сл₁₆ 1743) линии – 55–60 су-ток, имеющие высокую технологичность и семенную продуктивность (1,5–2,5 т/га). Предварительная оценка экспериментальных гибридов, созданных с использованием новых линий, свидетельствует о высокой селекционной ценности полученного материала. Раннеспелые гибридные комбинации Сл₁₆ 1702 × Сл 116-1-3-4 и Сл₁₆ 1702 × Сл 129-3-1-5 зацветают на 45-е сутки после появления всходов и имеют высокую для скороспелого подсолнечника урожайность – 3,30 и 3,38 т/га соответственно. Выращивание гибридов Сл₁₆ 1747 × ВК 302, Сл₁₆ 1747 × ВК 303 подтвердило их высокую продуктивность – 4,38 и 4,75 т/га соответственно, что свидетельствует о высокой комбинационной способности линии Сл₁₆ 1747. Широкий диапазон характеристик созданных линий, имеющих трубкообразные язычковые цветки, облегчит создание нового селекционного материала с наличием перспективного морфологического маркера.

UDC 633.854.78:631.52

Development of the new maternal lines of sunflower with short tubular ray flowers as a marker trait.

S.V. Kostevich, PhD in agriculture

N.V. Medvedeva, PhD in agriculture

All-Russian Research Institute of Oil Crops by

Pustovoi V.S. (VNIIMK)

17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

E-mail: hybrid@vniimk.ru

Key words: sunflower, morphological marker trait, maternal line, genetic purity, efficiency of seed growing.

Usage of the morphological marker traits in seed growing of hybrid sunflower allow to reach high genetic purity of seeds, to reduce labour efforts for varietal field cleanings, to increase a level of protection of author's rights for breeding achievements. In spite of a large amount of studied morphological marker traits of sunflower, the monogenic marker traits are the most desirable. The primary demand is absence of a dependence of phenotypic display of the genetic markers on crop management and environmental factors. One of such traits conditioned by the recessive gene *ft* is a trait of tubular ray flowers of sunflower. This trait was used as a marker one in our breeding program. The line VK 860 from the laboratory collection was used as a source of this trait. Using it we developed a group of the new lines. They are: very early maturing lines (Sl₁₆ 1702, Sl₁₆ 1703, Sl₁₆ 1737), period from the emergence to the beginning of flowering 45–48 days, and middle-early maturing lines (Sl₁₆ 1704, Sl₁₆ 1707, Sl₁₆ 1743) with a period of 55–60 days, being highly technological and having high seed

productivity (1.5–2.5 t per ha). A preliminary estimation of the experimental hybrids developed by means of the new lines certifies the high breeding importance of the received germplasm. Early maturing hybrid combinations Sl_{16} 1702 $\times$ Sl 116-1-3-4 and Sl_{16} 1702 $\times$ Sl 129-3-1-5 begin to blossom on 45th day after emergence and have a high yield for very early maturing sunflower – 3.30 and 3.38 t per ha, respectively. Cultivation of hybrids Sl_{16} 1747 $\times$ VK 302, Sl_{16} 1747 $\times$ VK 303 proved their high productivity – 4.38 and 4.75 t per ha, respectively. This certifies high combining ability of the line Sl_{16} 1747. A wide range of characteristics of the developed lines having tubular ray flowers will simplify development of new parental germplasm with a perspective morphological marker.

Введение. В семеноводстве подсолнечника большое значение имеет установление подлинности гибридов и их родительских форм, определение сортовой чистоты посевов и наличия примесей при апробации. Своевременное выявление отличительных признаков у растений является важным условием эффективного семеноводства [1].

Закон Российской Федерации «О селекционных достижениях» требует оценки гибридов по критериям отличимости, однородности и стабильности (ООС). Повысился интерес к разработкам методик выявления таких критериев. Патентная защита линий, сортов и гибридов и вступление нашей страны в 1998 г. в Международный союз по охране новых сортов растений (UPOV) требует наличия у селекционных достижений надежных отличительных признаков.

Современные достижения в области молекулярной биологии открыли принципиально новые возможности создания методик идентификации генотипов: по белковым спектрам, с помощью молекулярно-генетических маркеров и т.д. Совершенствуются методы биотехнологии и применения молекулярно-генетических маркеров для исследования геномов в контексте реализации генетического потенциала и в целях практической селекции [2]. Наличие маркера может помочь легко и быстро идентифицировать семена, что позволит распознавать механические смеси, облегчит идентификацию сорта в поле, может использоваться селекционерами в программе гибридизации в качестве средства быстрого определения перекрестного оплодотворения.

Создание линейных аналогов – одна из самых трудоемких и длительных процедур селекционной работы. Она осуществляется при помощи возвратных скрещиваний и является надежным методом селекции, позволяющим получить гарантированный результат.

Использование генетического маркера позволяет на ранних стадиях развития растений выбраковывать ненужные особи. Применение большого количества маркеров, покрывающих значительную часть генома сорта-реципиента, позволяет ограничиться двумя беккроссами и выбрать нужный вариант из селекционного материала. В этом случае аналог может быть создан за год-два [2].

Однако для выявления молекулярных маркеров необходимо сложное оборудование, дорогостоящие реактивы и длительное время проведения лабораторных анализов, а значит, их нельзя использовать массово в полевых условиях, например, для апробации посевов или при сортопрочиствах. Поэтому в настоящее время не потеряли значение методики определения отличимости генотипов по качественным и количественным морфологическим признакам, используемые в качестве морфологических маркеров.

Использование в семеноводстве моногенных морфологических признаков является оптимальным вариантом повышения эффективности при определении сортовой чистоты посевов, не требующим длительных измерений и математической обработки. Поэтому вопрос создания линий с уникальными морфологическими признаками актуален.

Наиболее известный, часто встречающийся в коллекционном материале признак подсолнечника – антоциановое окрашивание побега или его частей. Антоциановая окраска является доминантным признаком и контролируется рядом генов [3; 4; 5].

А. Kovacik и V. Skaloud описывают рецессивный ген *u*, под контролем которого верхушка побега подсолнечника приобретает желтую окраску, что удобно использовать в качестве морфологического маркерного признака [5].

Размер, окраска и форма язычковых цветков у подсолнечника являются одним из качественных информативных маркерных признаков, изучаемых селекционерами. Наследование окраски цветка у подсолнечника впервые было изучено T.D.A. Cockerell, который сообщил об одном доминантном

гене, контролирующем красную окраску цветка при скрещивании красноцветковых генотипов с формами с оранжевой и желтой окраской цветка [6]. Аналогичным образом обнаружено, что под контролем одного рецессивного гена *ft* находилось образование коротких трубкообразных язычковых цветков [7].

Изучению наследования признака коротких трубкообразных язычковых цветков подсолнечника во ВНИИМК посвящены научные работы Н.И. Бочкарева и др. [8], Я.Н. Демурин и др. [9].

В научных трудах В.В. Толмачева [10], Л.Г. Курасовой [3] и Ю.В. Лобачёва [4] описана генетика признака формы язычковых цветков. Обозначены четыре гена *fs*, *fm*, *ft* и *ftw*, контролирующие соответственно короткие, средние, короткие трубкообразные и скрученные язычковые цветки. Отмечено, что эти гены не оказывают негативного влияния на урожайность и качество семян у подсолнечника [4; 11; 10].

Форма язычковых цветков является очень наглядным маркерным признаком у подсолнечника. В настоящее время работы по изучению наследования и значения окраски и формы краевых цветков в селекции подсолнечника продолжаются. Однако отсутствуют унифицированные названия генов, отвечающих за разные признаки морфотипа язычковых цветков, не полностью изучены аллельные и неаллельные взаимодействия генов, не показана привлекательность того или иного типа цветков для опылителей [4].

Значительно облегчает использование в качестве генетических маркеров признаков, хорошо различимых на ранних этапах развития растения (окраска и форма семядолей, длина эпикотилия или гипокотилия, окраска, пятнистость и рассечённость первых настоящих листьев, форма куста), облегчает работу по ведению **гибридного семеноводства**. Для обеспечения отличимости линий, гибридов желательны моногенные маркерные признаки. Основным требованием является отсутствие зависимости фенотипического проявления генетических маркеров от агротехники и факторов среды [3].

Однако за время, требующееся для введения маркерных генов в родительские формы, могут быть созданы новые гибриды и линии на смену существующим. Поэтому целесообразно заблаговременно вводить маркерные гены в исходный селекционный материал

подсолнечника, который послужит основой при создании новых линий.

В целях защиты авторских прав на селекционные достижения и для поддержания генетической чистоты родительских линий при размножении, в качестве маркерного признака в нашей селекционной программе использован рецессивный ген *ft* – трубкообразные (tubular) язычковые цветки подсолнечника.

В работе представлены результаты использования гена *ft* подсолнечника в селекционно-семеноводческой практике.

Материалы и методы. С 2010 г. и по настоящее время в лаборатории селекции гибридного подсолнечника ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК проводились исследования по созданию новых линий подсолнечника, обладающих маркерным признаком трубкообразного язычкового цветка, и комплексной оценке полученного селекционного материала. В качестве донора признака трубкообразных язычковых цветков подсолнечника нами была использована линия ВК 860 (рис. 1).

Рисунок 1 – Растение и корзинка линии ВК 860, 2018 г.

Это позднеспелая линия (от всходов до начала цветения 62–65 дней), которая не обладает высокой комбинационной способностью и не используется в качестве материнской ни в одном из гибридов. Характерной особенностью линии ВК 860 является наличие воздушной полости в семянках, вследствие чего они склонны к обрушиванию при механизированной уборке и послеуборочной доработке, а масса 1000 семянок, несмотря на довольно крупные линейные размеры, не превышает 65 г (рис. 2). Семенная продуктивность этой линии составляет 1,2–1,6 т/га.

Рисунок 2 – Семянки линии ВК 860

В качестве второго родительского компонента при скрещивании были использованы линии: ВК 101 и ВА 6, имеющие соцветия с нормальными язычковыми цветками.

Технология ручной кастрации растений, гибридизации, самоопыления и беккроссирования соответствовала общепринятым методикам. Фенологические наблюдения, биометрические измерения производились по методикам, принятым в лаборатории.

Результаты и обсуждение. Скрещивание линий закрепителей стерильности пыльцы подсолнечника было проведено в 2010 г. в условиях климатической камеры ФТК. Кастрированные вручную растения линий ВК 101 и ВК 860 были опылены пыльцой линий ВА 6 и ВК 860. Гибридные растения выращивали на двухрядных делянках в полевых условиях 2011 г. Все гибриды первого поколения имели соцветия с нормальными язычковыми цветками, что подтверждает рецессивность генов, контролирующих признак трубкообразных язычковых цветков (табл. 1, рис. 3).

Таблица 1

Форма язычковых цветков гибридов первого поколения подсолнечника при скрещивании линий с трубкообразными и нормальными цветками

г. Краснодар, ВНИИМК 2011 г.

Гибридная комбинация	Количество растений, шт.		
	всего	форма язычковых цветков	
		трубкообразные	нормальные
ВК 101 Б × ВК 860 Б	82	-	82
ВК 860 Б × ВА 6 Б	76	-	76

Форма язычковых цветков полученных гибридных комбинаций не зависела от использования линии ВК 860 как в качестве ма-

теринского, так и в качестве отцовского компонента.

Рисунок 3 – Гибриды первого поколения

Гибридные растения изолировали и самоопыляли. В расщепляющемся поколении F_2 в условиях 2012 г. наблюдаемый нами признак проявил себя как моногенный: не отмечено промежуточных форм и соотношение растений, имеющих нормальные и трубкообразные язычковые цветки корзинки, в популяциях соответствовало теоретическому распределению 3:1. Соответствие эмпирического расщепления теоретически ожидаемому оценивалось по критерию χ^2 Пирсона, при уровне значимости $p = 0,05$ и степени свободы $df = 1$, $\chi^2_{\text{эмп.}} < \chi^2_{05} = 3,84$. (табл. 2).

Таблица 2

Соотношение растений с трубкообразной и нормальной формой язычковых цветков в расщепляющейся популяции подсолнечника поколения F_2

г. Краснодар, ВНИИМК 2012 г.

Гибридная комбинация	Количество растений, шт.			$\chi^2_{\text{эмп}}$ модель 3 : 1
	всего	Форма язычковых цветков		
		трубкообразные	нормальные	
ВК 101 Б × ВК 860 Б	151	32	119	1,17
ВК 860 Б × ВА 6 Б	137	27	110	2,04

В расщепляющихся популяциях нами было отобрано и изолировано по 50 растений, независимо от формы цветка. Потомство отобранных растений высевалось в следующем году поделочно. Начиная с F_3 и далее, внутри каждой семьи мы проводили отбор лучших по комплексу хозяйственно ценных признаков растений. Следует отметить, что из

популяции F₂ от скрещивания линий ВК 101 и ВК 860 в результате отбора получено наибольшее количество фенотипически различающихся новых линий. Можно предположить, что использование при скрещивании в качестве одного из родительских компонентов линии, обладающей высокой общей комбинационной способностью, а в качестве второго компонента максимально неродственной линии с невысокой комбинационной способностью позволило получить в расщепляющемся потомстве наибольшее разнообразие генотипов.

Стабилизированные после пятого поколения самоопыления линии подсолнечника мы разделили на группы по форме язычкового цветка: линии, имеющие «нормальные» язычковые цветки, которые используются нами в дальнейшей селекционной работе, и линии с трубкообразными язычковыми цветками, которые включены в работу по изучению возможности применения морфологического маркерного признака в семеноводстве подсолнечника.

В значительно расширенной коллекции линий с трубкообразными язычковыми цветками появились низкорослые и раннеспелые линии, среди которых удалось выделить несколько перспективных, обладающих комплексом хозяйственно полезных признаков. Нам удалось добиться повышения выполненности семян и увеличения их технологичности при механизированной уборке и послеуборочной доработке семян, снизив уровень их травмируемости. В процессе дальнейшей селекции были выделены линии, отличающиеся формой, размерами и пропорциями семян, что также повысило внешнюю привлекательность семенного материала для потенциальных потребителей (рис. 4). Основные характеристики новых селекционных линий представлены в таблице 3.

Созданные линии отличаются низкорослостью (от 85 до 125 см), повышенной семенной продуктивностью (1,57–2,70 т/га) и высокой технологичностью. Проведенные полевые исследования и лабораторные анализы показали, что новые селекционные линии имеют высокую устойчивость ко многим заболеваниям подсолнечника, в том числе к пяти расам зарази.

Таблица 3

Основные характеристики новых селекционных линий подсолнечника с трубкообразными язычковыми цветками

г. Краснодар, ВНИИМК 2017–2018 гг.

Линия	Происхождение	Период от всходов до начала цветения, сутки	Высота растения, см	Диаметр корзинки, см	Масса 1000 семян, г	Биологическая продуктивность, т/га
ВК 860	ВК 860 (донор)	62–65	140	19	65	1,61
Сл ₁₆ 1702	ВК 101 Б × ВК 860 Б	45–48	85	14	50	1,57
Сл ₁₆ 1703	ВК 101 Б × ВК 860 Б	45–48	85	14	70	2,38
Сл ₁₆ 1704	ВК 101 Б × ВК 860 Б	57–60	110	16	62	1,93
Сл ₁₆ 1707	ВК 101 Б × ВК 860 Б	55–58	125	18	57	2,38
Сл ₁₆ 1737	ВК 101 Б × ВК 860 Б	47–50	120	19	63	2,59
Сл ₁₆ 1743	ВК 101 Б × ВК 860 Б	58–60	110	17	70	2,70
Сл ₁₆ 1747	ВК 860 Б × ВА 6 Б	60–62	105	18	53	2,04

Три генотипа из группы новых линий имеют период от всходов до начала цветения менее 50 суток. Это не только позволяет получить скороспелые гибридные комбинации на основе этих линий, но и дает возможность применения данных генотипов в качестве доноров маркерного признака для широкого набора материнских линий, как новых перспективных, так и линий, успешно использующихся в семеноводстве коммерческих гибридов.

Для линий Сл₁₆ 1737, Сл₁₆ 1743 и Сл₁₆ 1747 завершается работа по созданию стерильных аналогов.

Заключение. Коллекция фертильных линий подсолнечника ВНИИМК пополнилась новыми линиями, имеющими трубкообразные язычковые цветки. Созданные линии отличаются низкорослостью и повышенной семенной продуктивностью. Использование этого материала в качестве родительских компонентов при создании новых гибридов дает возможность применять маркерный признак трубкообразности язычковых цветков в семеноводстве при проведении сортовых прополок, позволяя значительно повысить уровень генетической чистоты при получении гибридов. Рецессивность и отличная визуализация морфологического признака может сократить трудозатраты при проведении сортовых прополок и повысить их эффективность. Широкий диапазон характеристик созданных линий, имеющих трубкообразные язычковые цветки, делает их перспективными донорами признака для со-

здания нового селекционного материала с наличием морфологического маркера.

Список литературы

1. Гронин В.В. Использование качественных и морфометрических признаков обеспечения отличимости родительских линий и гибридов подсолнечника: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Краснодар, 2007. – 25 с.

2. Чесноков Ю. В., Косолапов В. М. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса. – М.: ООО «Угрешская типография», 2016. – 172 с.

3. Курасова Л.Г. Генетический контроль и селекционная оценка форм язычковых цветков у подсолнечника: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2009. – 22 с.

4. Лобачёв Ю.В., Курасова Л.Г., Лекарев В.М., Константинова Е.А. Генетический контроль формы язычковых цветков у почти изогенных линий подсолнечника // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2010. – Вып. 2 (144–145). – С. 21–25.

5. Kovacik A., Skaloud V. Collection of sunflower marker genes available for genetic studies // *Helia*. – 1980. – No. 3. – P. 27–28.

6. Cockerell T.D.A. The red sunflower // *Popular Science Monthly*. – April 1912. – Vol. 80. – P. 373–382.

7. Плачек Е.М. Подсолнечник в СССР // *Семеноводство*. – 1931. – № 13–14. – С. 39–44.

8. Бочкарев Н.И., Толмачев В.В., Цухло Л.Г. Маркерные признаки растений и семян // *Биология, селекция и возделывание подсолнечника*. – М.: Агропромиздат, 1992. – С. 39–44.

9. Демурин Я.Н., Толмачев В.В. Наследование некоторых маркерных признаков подсолнечника // *Вопросы прикладной физиологии и генетики масличных растений: сборник научных работ*. – Краснодар, ВНИИМК, 1986. – С. 14–19.

10. Толмачев В.В. Генетический контроль формы краевых цветков подсолнечника // *Масличные культуры*. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2006. – Вып. 2 (135). – С. 50–60.

11. Барнашова Е.К. Исходный материал для селекции подсолнечника с различной окраской язычковых цветков: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук. – Саратов, 2008. – 22 с.

12. Константинова Е.А. Генетический контроль и селекционная ценность окраски язычковых цветков у подсолнечника: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2004. – 18 с.

References

1. Gronin V.V. Ispol'zovaniye kachestvennykh i morfometricheskikh priznakov obespecheniya otlichimosti roditel'skikh liniy i gibridov podsolnechnika: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – Krasnodar, 2007. – 25 s.

2. Chesnokov YU. V., Kosolapov V. M. Geneticheskiye resursy rasteniy i uskoreniye selektsionnogo protsessa. – M.: ООО «Ugreshskaya tipografiya», 2016. – 172 s.

3. Kurasova L.G. Geneticheskiy kontrol' i selektsionnaya otsenka form yazychkovykh tsvetkov u podsolnechnika: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – Saratov, 2009. – 22 s.

4. Lobachëv YU.V., Kurasova L.G., Lekarev V.M., Konstantinova E.A. Geneticheskiy kontrol' formy yazychkovykh tsvetkov u pochti izogennykh liniy podsolnechnika // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2010. – Vyp. 2 (144–145). – S. 21–25.

5. Kovacik A., Skaloud V. Collection of sunflower marker genes available for genetic studies // *Helia*. – 1980. – No. 3. – P. 27–28.

6. Sockerell T.D.A. The red sunflower // *Popular Science Monthly*. – April 1912. – Vol. 80. – P. 373–382.

7. Plachek E.M. Podsolnechnik v SSSR // *Semenovodstvo*. – 1931. – № 13–14. – S. 39–44.

8. Bochkarev N.I., Tolmachev V.V., TSukhlo L.G. Markernyye priznaki rasteniy i semyan // *Biologiya, selektsiya i vozdelvaniye podsolnechnika*. – M.: Agropromizdat, 1992. – S. 39–44.

9. Demurin YA.N., Tolmachev V.V. Nasledovaniye nekotorykh markernykh priznakov podsolnechnika // *Voprosy prikladnoy fiziologii i genetiki maslichnykh rasteniy: sbornik nauchnykh rabot*. – Krasnodar, VNIIMK, 1986. – S. 14–19.

10. Tolmachev V.V. Geneticheskiy kontrol' formy krayevykh tsvetkov podsolnechnika // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK*. – 2006. – Vyp. 2 (135). – S. 50–60.

11. Barnashova E.K. Iskhodnyy material dlya selektsii podsolnechnika s razlichnoy okraskoy yazychkovykh tsvetkov: avtoref. dis. ... kand. s.-kh. nauk. – Saratov, 2008. – 22 s.

12. Konstantinova E.A. Geneticheskiy kontrol' i selektsionnaya tsennost' okraski yazychkovykh tsvetkov u podsolnechnika: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. – Saratov, 2004. – 18 s.

Получено: 09.10.2018 Принято: 06.11.2018

Received: 09.10.2018 Accepted: 06.11.2018