УДК 633.854.78:575

DOI 10.25230/2412–608X–2019–2–178–9–13

Характеристика крупноплодной популяции имидазолиноноустойчивого подсолнечника

Я.Н. Демури^{1,2},

доктор биологических наук, профессор

А.А. Пихтярева¹,

кандидат биологических наук

А.С. Тронин¹,

кандидат биологических наук

А.А. Децына¹,

кандидат сельскохозяйственных наук

С.А. Пикунов^{1,2},

аспирант

¹ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

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

Тел.: (861) 274-21-80

E-mail: yakdemurin@yandex.ru

²ФГБОУ ВО «Кубанский Государственный
Университет»

Для цитирования: Демури Я.Н., Пихтярева А.А., Тронин А.С., Децына А.А., Пикунов С.А. Характеристика крупноплодной популяции имидазолиноноустойчивого подсолнечника // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 2 (178). – С. 9–13.

Ключевые слова: гербицид, донор, крупноплодность, сорт, скрещивание

Цель работы состояла в создании имидазолиноноустойчивого селекционного материала для получения крупноплодных кондитерских сортов подсолнечника межеумочного типа, пригодных для выращивания по производственной системе Clearfield. Исследования проводили в 2014–2017 гг. во ВНИИМК, г. Краснодар. Линия VK1-ими была донором гена имидазолиноноустойчивости *Imr*. Крупноплодные сорта-популяции подсолнечника Орешек и Джинн служили реципиентами. Количественную оценку степени повреждения растений гербицидом Евро-Лайтнинг (1 л/га) выполняли по 9-балльной шкале фитотоксичности через 7–10 дней после обработки отдельных растений с применением ранцевого опрыскивателя. Использовали следующую шкалу баллов: 0 – симптомы повреждения отсутствуют; 1, 2 и 3 – увеличение степени хлороза листьев и снижение высоты растения; 4, 5 и 6 – нарастание морфологических аномалий гофрированности

листа; 7, 8 и 9 – нарастание некроза листьев до гибели растения. Отобраны 32 корзинки F₆ по следующим критериям семян: число > 700 шт., масса 1000 шт. > 100 г, длина > 12 мм, форма овально-удлиненная, маслянистость > 35 % и лужистость < 37 %. В среднем эти семьи характеризовались массой 1000 семян 115 г, маслянистостью 38 % и лужистостью 33 %. Использование методов гибридизации, возвратных скрещиваний, самоопыления и группового переопыления позволило создать за четыре года и шесть поколений гомозиготную по гену имидазолиноноустойчивости *Imr* исходную популяцию крупноплодного подсолнечника для селекции кондитерских сортов межеумочного типа, пригодных для производственной системы Clearfield.

UDC 633.854.78:575

Characteristics of imidazolinone-resistant population of confectionery sunflower.

Ya.N. Demurin^{1,2}, doctor of biology, professor

A.A. Pikhtyaryova¹, PhD in biology

A.S. Tronin¹, PhD in biology

A.A. Detsyna¹, PhD in agriculture

S.A. Pikunov^{1,2}, postgraduate student

¹V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

17 Filatova street, Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 274-21-80

E-mail: yakdemurin@yandex.ru

²FSBEI of Higher Education “Kuban State University”

Key words: herbicide, donor, large-fruited, variety, crossing

The aim of the work was to develop a parent material for the breeding of large-fruited confectionery varieties of sunflower, resistant to imidazolinones and suitable for cultivation by the Clearfield production system. The research was conducted in 2014–2017 at V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops, Krasnodar. The VK1-imi line was used as a donor of the imidazolinone resistance gene *Imr*. Large-fruited sunflower varieties Oreshek and Dzhinn served as recipients. A quantitative evaluation of the damage to plants with Euro-Lightning herbicide (1 l/ha) was made according to a 9-point marking scale of phytotoxicity in 7–10 days after treatment of individual plants using a sprayer. The following scale of points was used: 0 - no symptoms of damage; 1, 2 and 3 - increase in the degree of chlorosis of leaves and decrease in plant height; 4, 5 and 6 - the growth of morphological anomalies of the corrugation of the leaf; 7, 8 and 9 - the growth of necrosis of leaves to the death of the plant. Thirty two of F₆ heads were selected according to the following criteria of achenes: number > 700 seeds, thousand-seed weight >

100 g, length > 12 mm, oval-elongated shape, oil content > 35% and huskness < 37%. On average, these families were characterized by a thousand-seed weight of 115 g, 38 % of oil content and 33 % of huskness. The use of methods of hybridization, back-crossing, self-pollination and group pollination made it possible to develop in four years and six generations a homozygous on imidazolinone-resistant *Imr* gene parent population of large-fruited sunflower for breeding of confectionery varieties suitable for the Clearfield production system.

Введение. Создание крупноплодных сортов подсолнечника кондитерского назначения, включая употребление семян в жареном виде, относится к актуальным селекционным направлениям.

В России при выращивании товарных семян этой культуры широко используется производственная система Clearfield (BASF), включающая в себя послевсходовую обработку растений гербицидоустойчивых гибридов высокоэффективными ALS-ингибиторами системного действия из группы имидазолинонов (Евро-Лайтнинг). Однако использование этой технологии в производстве крупноплодного подсолнечника кондитерского направления в нашей стране невозможно из-за отсутствия гербицидоустойчивых сортов и гибридов межеумочного типа, отвечающих требованиям отечественной перерабатывающей промышленности.

Генетическим фундаментом производственной системы Clearfield является обнаружение гена устойчивости к имидазолинонам (*Imr*) в природной дикорастущей популяции, с последующей передачей его путем скрещиваний культурному подсолнечнику [1; 2]. Первые отечественные масличные гибриды подсолнечника Имидж и Аrimi, созданные во ВНИИМК и обладающие наследственной толерантностью к имидазолинонам, внесены в Госреестр селекционных достижений в 2014 г. [3].

Главная задача данной работы состояла в совмещении в одном генофонде сортовой популяции подсолнечника признаков крупноплодности межеумочного типа и устойчивости к имидазолинонам для

выращивания по производственной системе Clearfield.

Материалы и методы. Исследования проводили в 2014–2017 гг. на центральной экспериментальной базе ВНИИМК, г. Краснодар. Использовали селекционную линию закрепитель стерильности ВК1-ими в качестве донора полудоминантного гена имидазолиноустойчивости *Imr*, а также крупноплодные сорта-популяции подсолнечника селекции ВНИИМК Орешек (раннеспелый) и Джинн (среднеспелый). Проводили ручной посев на селекционном питомнике при расстановке растений 70 × 30 см. Для получения мужски стерильных форм использовали аквакастрацию, проводя ежедневный смыв пыльцы обоеполых трубчатых цветков очередного круга цветения корзинки водой, с последующим нанесением пыльцы отцовской формы.

Количественную оценку степени повреждения растений гербицидом Евро-Лайтнинг (1 л/га) в ходе селекционной работы выполняли по 9-балльной шкале фитотоксичности через 7–10 дней после обработки отдельных растений с применением ранцевого опрыскивателя. Использовали следующую шкалу баллов: 0 – симптомы повреждения отсутствуют; 1, 2 и 3 – увеличение степени хлороза листьев и снижение высоты растения; 4, 5 и 6 – нарастание морфологических аномалий гофрированности листа; 7, 8 и 9 – нарастание некроза листьев до гибели растения [4; 5].

В случае выращивания растений в осенне-зимний период в камере фитотрона использовали фотопериод 16/8 ч день/ночь, светильники Фотос.4 с лампами ДРИ-2000-6, обеспечивающие освещенность 25 килोलюкс. Доза Евро-Лайтнинга при обработке растений в условиях фитотрона составила 0,5 х (0,5 л/га).

Масличность семян оценивали физическим методом с помощью ЯМР-анализатора АМВ-1006М. Лузжистость семян определяли путём лущения навески в 5 г без предварительного запари-

вания материала в кипятке, дальнейшего взвешивания лузги в двух повторностях с последующим расчётом среднего значения.

При статистической обработке данных руководствовались техникой построения вариационных рядов в изложении Г.Ф. Лакина [6], а также использовали пакет для статистической обработки данных программы Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение. Летом 2014 г. в полевых условиях проведено скрещивание пяти растений линии ВК1-ими (*Imr Imr*) в качестве материнской формы со смесью пыльцы 30 корзинок крупноплодного сорта Орешек (*imr imr*). Полученные гибридные семена F_1 посеяны в камере фитотрона, от которых восемь растений опылены смесью пыльцы с 32 корзинок крупноплодного сорта Орешек, сформировав семена поколения BC_1 (табл. 1).

В полевых условиях 2015 г. растения BC_1 обработаны гербицидом Евро-Лайтнинг, а выжившие гетерозиготы *Imr imr* опылены пыльцой с 50 корзинок крупноплодного сорта Джинн, продуцируя семена BC_2 . В условиях камеры фитотрона 2015–2016 гг. проведено переопыление выживших после обработки гербицидом 28 гетерозиготных растений BC_2 .

Таблица 1

Этапы селекционной работы по введению гена гербицидоустойчивости *Imr* в генофонд сортов крупноплодного подсолнечника, 2014–2017 гг.

Год	Условия	Этап работы	Полученные семена
2014	Поле	ВК1-ими × Орешек	F_1
2014–2015	Фитотрон	F_1 × Орешек	BC_1
2015	Поле	BC_1 × Джинн	BC_2
2015–2016	Фитотрон	Переопыление устойчивых BC_2	F_4
2016	Поле	Самоопыление устойчивых F_4	F_5 (I_1F_4)
2017	Поле	Переопыление устойчивых F_5	F_6

В 2016 г. в полевых условиях 911 растений F_4 обработаны гербицидом Евро-Лайтнинг, при этом наблюдали фенотипическое варьирование по всем баллам

фитотоксичности от 1 до 9, что отражало генотипическое расщепление по гену *Imr* (табл. 2). Полностью погибшие 9-балльные растения остановились в росте сразу после обработки на высоте 8,3 см. Лучшие по морфотипу 50 растений с баллами фитотоксичности от 1 до 3 были изолированы и самоопылены, дав семена следующего поколения F_5 (I_1F_4). Для дальнейшей работы были отобраны 33 самоопыленные корзинки с семенами массой 1000 шт. не менее 80 г (крупноплодность), числом семян не менее 100 шт./корзинку (автофертильность) и овально-удлиненной формы.

Таблица 2

Оценка расщепляющейся популяции F_4 по шкале фитотоксичности для ALS-ингибирующих гербицидов, поле 2016 г.

Балл фитотоксичности	Количество растений, шт.	Высота растения, см
1	31	$31,4 \pm 0,8$
2	2	$33,5 \pm 8,5$
3	22	$30,3 \pm 2,1$
4	73	$30,6 \pm 0,8$
5	59	$27,0 \pm 0,7$
6	57	$24,2 \pm 0,8$
7	157	$17,2 \pm 0,3$
8	339	$13,3 \pm 0,2$
9	171	$8,3 \pm 0,2$
Всего	911	-

В 2017 г. на пространственно изолированном участке 0,2 га на 30-метровых двурядковых делянках посеяны 23 мая (поздний посев для временной изоляции) семена 33 самоопыленных семей (корзинок) F_5 . Шесть семей были элиминированы до цветения по разным причинам: одна показала расщепление по гербицидоустойчивости, одна – по хлорофилльной мутации, одна – по ветвлению и три – из-за плохих всходов. В оставшихся 27 семьях растения по высоте и диаметру корзинки были выровнены, коэффициент вариации не превышал 11 и 15 % соответственно.

Кроме того, на оставшихся делянках, показавших отсутствие расщепления по гербицидоустойчивости, т.е. являющихся гомозиготами по гену *Imr*, во время и после цветения проведена жесткая выбра-

ковка по селекционно ценным признакам: устойчивости к сухой гнили корзинки, оптимальному габитусу растения и выровненности по длине вегетационного периода. В результате получены семена F_6 с отдельно убранных 164 корзинок, т.е. 5 % от исходного числа растений на участке, при их свободном переопылении в условиях пространственно-временной изоляции.

В лабораторных условиях из этих 164 корзинок выделены 43 по следующим критериям: число семян > 700 шт., масса 1000 семян > 100 г, длина семян > 12 мм, форма семян овально-удлиненная, масличность > 30 % и лузжистость < 46 %.

Средняя между испытываемыми образцами масличность семян составила 38,4 % с размахом варьирования от 30,3 до 46,5 %. Средний показатель лузжистости, в свою очередь, составил 33,3 при минимальном значении 24,0 и максимальном – 46,1 %.

Показатели масличности и лузжистости у исследуемых образцов распределились в вариационных рядах на восемь классов. При этом классы распределения с 3-го по 6-й оказались с большим количеством частот. Их диапазон масличности составил от 34,0 до 43,9 % (рис. 1).

Рисунок 1 – Гистограмма распределения частот по масличности семян корзинок подсолнечника, гомозиготных по гербицидоустойчивости:

1-й класс – масличность 29,0–31,4 %;
 2-й класс – 31,5–33,9 %; 3-й класс – 34,0–36,4 %;
 4-й класс – 36,5–38,9 %; 5-й класс – 39,0–41,4 %;
 6-й класс – 41,5–43,9 %; 7-й класс – 44,0–46,4 %;
 8-й класс – 46,5–49,0 %

По оценке лузжистости наиболее частотным (в 16-ти случаях из 43-х) оказался 4-й класс, интервал которого был рассчитан как 32,5–35,8 % (рис. 2).

Рисунок 2 – Гистограмма распределения частот по лузжистости семян корзинок подсолнечника:

1-й класс – лузжистость 22,3–25,6 %;
 2-й класс – 25,7–29,0 %; 3-й класс – 29,1–32,4 %;
 4-й класс – 32,5–35,8 %; 5-й класс – 35,9–39,2 %;
 6-й класс – 39,3–42,6 %; 7-й класс – 42,7–46,0 %;
 8-й класс – 46,1–49,5 %

На основе вышеуказанных данных семена 32 элитных корзинок с оптимальными для кондитерского подсолнечника показателями масличности и лузжистости были отобраны для посева и дальнейшего размножения на изолированном участке.

Выводы. Использование методов гибридизации, возвратных скрещиваний, самоопыления и группового переопыления позволило создать за четыре года и шесть поколений гомозиготную по гену имидазолиноноустойчивости *Imr* исходную популяцию крупноплодного подсолнечника для селекции кондитерских сортов межемочного типа, пригодных для производственной системы Clearfield.

Список литературы

1. *Bruniard J.M., Miller J.F.* Inheritance of imidazolinone-herbicide resistance in sunflower // *Helia*. – 2001. – Vol. 24. – P. 11–16.
2. *Miller J.F., Al-Khatib K.* Registration of imidazolinone herbicide-resistant sunflower maintainer (HA425) and fertility restorer (RHA426 and RHA427) germplasms // *Crop Science*. – 2002. – Vol. 42. – P. 988–989.
3. Демури́н Я.Н., Пихтярёва А.А., Борисенко О.М., Тремба́к Е.Н., Пика́лова Н.А. Первые отечественные имидазолиноноустойчивые гибриды подсолнечника Имидж и Арими // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2012. – Вып. 1 (150). – С. 172.
4. Демури́н Я.Н., Тронин А.С., Пика́лова Н.А. Шкала фитотоксичности ALS-ингибирующих гербицидов у подсолнечника // Масличные культуры Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2013. – Вып. 2 (155–156). – С. 24–27.
5. *Sala C.A., Bulos M.* Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting acetohydroxyacid synthase in sunflower // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2012. – V. 124. – P. 355–364.
6. *Лакин Г.Ф.* Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.

References

1. *Bruniard J.M., Miller J.F.* Inheritance of imidazolinone-herbicide resistance in sunflower // *Helia*. – 2001. – Vol. 24. – P. 11–16.
2. *Miller J.F., Al-Khatib K.* Registration of imidazolinone herbicide-resistant sunflower maintainer (HA425) and fertility restorer (RHA426 and RHA427) germplasms // *Crop Science*. – 2002. – Vol. 42. – P. 988–989.
3. Demurin Ya.N., Pikhtyarova A.A., Borisenko O.M., Trembak Ye.N., Pikalova N.A. Pervyye otechestvennyye imidazolinonoustoychivyye gibridy podsolnechnika Imidzh i Arimi // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK*. – 2012. – Vyp. 1 (150). – S. 172.
4. Demurin Ya.N., Tronin A.S., Pikalova N.A. Shkala fitotoksichnosti ALS-ingibiruyushchikh gerbitsidov u podsolnechnika // *Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekh. byul. VNIIMK*. – 2013. – Vyp. 2 (155–156). – S. 24–27.
5. *Sala C.A., Bulos M.* Inheritance and molecular characterization of broad range tolerance to herbicides targeting acetohydroxyacid synthase in sunflower // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2012. – V. 124. – P. 355–364.
6. *Lakin G.F.* *Biometriya: ucheb. posobiye dlya biol. spets. Vuzov*; 4-e izd., pererab. i dop. – M.: Vyssh. shk., 1990. – 352 s.

Получено: 03.04.2019 *Принято:* 30.04.2019
Received: 03.04.2019 *Accepted:* 30.04.2019