Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.)

Э.Б. Бочкарева,

доктор сельскохозяйственных наук

Л.А. Горлова,

кандидат биологических наук

В.В. Сердюк,

старший научный сотрудник

Е.А. Стрельников,

кандидат биологических наук

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

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

Тел.: (861) 275-79-10

E-mail: raps@vniimk.ru

Для цитирования: Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.) // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 4 (180). – С. 18–22.

Ключевые слова: рапс яровой, гибрид, дигаплоидная линия, хозяйственные признаки.

В современных генетических исследованиях и в селекции капустных культур широко применяются биотехнологические методы создания чистых линий – удвоенных гаплоидов через культуру пыльников и изолированных микроспор *in vitro*. В отличие от классических методов селекции, с помощью метода гаплоидии можно получать полностью гомозиготные растения в течение одного года, что позволяет значительно ускорить селекционный процесс. Исследования проведены на центральной экспериментальной базе ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, г. Краснодар. Целью данной работы являлась оценка дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.) по комплексу хозяйственно ценных признаков, пригодных для селекции сортов и гибридов. Изложены результаты оценки хозяйственной ценности дигаплоидных линий рапса ярового, полученных методом культуры пыльников и изолированных микроспор на основе внутривидовых гибридов F₁. Из двухсот дигаплоидных линий после оценки в полевых условиях выделено девять, перспективных по комплексу хозяйственно полезных признаков, которые были включены в селекционную программу по трем

направлениям: создание линейных сортов, создание исходного материала на основе межлинейных скрещиваний, создание стерильных аналогов лучших линий для использования их в качестве материнских форм в гетерозисной селекции. В конкурсном испытании две дигаплоидные линии рапса ярового тип «00» ВН 2478 и ВН 2480 продемонстрировали высокую масличность (46,0–46,7 %), низкое содержание глюкозинолатов в семенах (12,7–13,0 мкмоль/г) и превысили стандарт-сорт Таврион по урожайности семян на 9–10 %. Для использования в гетерозисной селекции создан стерильный аналог линии ВН 2480.

UDC 631.52:633.853.494

Breeding value of dihaploid lines of spring rapeseed (*Brassica napus* L.).

E.B. Bochkaryova, doctor of agriculture

L.A. Gorlova, PhD in biology

V.V. Serdyuk, senior researcher

E.A. Strelnikov, PhD in biology

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

17 Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 275-79-10

E-mail: raps@vniimk.ru

Key words: spring rapeseed; dihaploid line; economic characters.

In modern genetic researches and breeding of cruciferous oilseed crops, biotechnological methods are widely used to develop clean lines – doubled haploids through anther culture and isolated microspores *in vitro*. Unlike with the traditional breeding methods, using the haploidy method one can get completely homozygous plants within one year, which can significantly accelerate the breeding process. The studies were conducted at the fields of V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops. The aim of this work was to evaluate the dihaploid lines of spring rapeseed (*Brassica napus* L.) by a set of economic traits suitable for breeding of varieties and hybrids. We estimated economic value of dihaploid lines of spring rapeseed. These lines were developed by a method of anther culture and isolated microspores basing on intraspecific hybrids F₁. From the 200 dihaploid lines after estimation in field, we selected nine lines promising by a complex of economic traits. They were included into the breeding program in three directions: development of linear varieties; development of breeding germplasm basing on interline crosses; development of sterile analogs of the best lines for their usage as female parents in heterosis breeding. In the competitive trial, two dihaploid lines of spring rapeseed of type “00” VN 2478 and VN 2480 showed high oil content (46.0–46.7%), low glucosinolate content in seeds (12.7–13.0 μmol/g) and exceeded the standard variety Tavrion on seeds yield

by 9–10%. We developed a sterile analog of the line VN 2480 for usage in the heterosis breeding.

Введение. Создание новых сортов и гибридов рапса ярового, соответствующих запросам сельскохозяйственного производства, во многом зависит от генетического разнообразия исходного материала, который можно создавать, в том числе, с помощью методов биотехнологии. Одним из них является метод получения гаплоидов из репродуктивных клеток в условиях *in vitro* с последующим удвоением числа хромосом путем колхицинирования. Метод гаплоидии позволяет ускорить создание гомозиготных линий по сравнению с традиционной селекцией в 5–6 раз [16]. Гаплоидная биотехнология позволяет не только получить гомозиготные линии из гибридных комбинаций, но и использовать генетическое разнообразие микроспор для создания селекционно-ценного материала сельскохозяйственных культур [17]. На рапсе метод культуры изолированных пыльников создан в 70-е годы XX века [13; 18]. В 1988 г. был детализован базовый протокол культуры микроспор рапса [14], однако в связи с тем, что на процесс получения удвоенных гаплоидов влияет ряд факторов, разрабатываются различные модификации этого метода [3; 9; 10]. Метод культуры пыльников и микроспор *in vitro* в настоящее время является общепризнанным в селекции различных сельскохозяйственных культур. На рапсе и различных разновидностях капусты этот метод активно применяется при селекции на устойчивость к болезням, в гетерозисной селекции [4; 5; 6; 12; 15]. В НПЦ НАН Беларуси по земледелию с использованием культуры *in vitro* создан сорт ярового рапса Неман [11].

Целью наших исследований была оценка дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.) по комплексу хозяйственно ценных признаков, пригодных для селекции сортов и гибридов.

Материалы и методы. Исследования начаты в 1989 г. и продолжаются по настоящее время на центральной экспериментальной базе ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Объектом исследований служили дигап-

лоидные линии рапса ярового (*Brassica napus* L.), полученные в лаборатории биотехнологии ВНИИМК (Н.И. Никитина и др., 1989). Материалом для создания дигаплоидов послужили гибриды F₁ по следующим комбинациям: «сорт Кубанский × сорт Глобаль», «сорт Вестар × сорт Ярвэлон», «(сорт Кубанский × сорт Бронковский) × сорт Ханна», «сорт Глобаль × сорт Эввин». Полевые опыты по оценке дигаплоидных линий закладывали по принятой во ВНИИМК методике [7]. Размножение дигаплоидных линий осуществляли самоопылением под изоляторами из спанбонда. Биохимические анализы семян выполняли в лаборатории биохимии с использованием ЯМР-анализатора, газового хроматографа «Хроматекс-Кристалл 5000», ИК-анализатора (NIR-Sistem 4500).

Статистическую обработку данных проводили с использованием алгоритма однофакторного дисперсионного анализа программы Excel и дополнительным расчетом НСР в изложении Б.А. Доспехова [1].

Результаты и обсуждение. В результате исследований по каждой гибридной комбинации было получено по 50 дигаплоидных линий и проведена их оценка в полевых условиях по морфологическим и хозяйственным признакам. Высота растений дигаплоидных линий по всем комбинациям скрещивания варьировала от 140 до 152 см. Наиболее высокорослыми были дигаплоиды комбинации «(сорт Кубанский × сорт Бронковский) × сорт Ханна», высота которых колебалась от 148 до 152 см. Изучение вегетационного периода показало, что различия по этому признаку между дигаплоидными линиями были незначительны, размах изменчивости составил от 86 до 92 суток. Наиболее скороспелыми оказались дигаплоиды комбинации «Глобаль × Эввин», продолжительность вегетационного периода у них составляла от 86 до 88 суток. Урожайность семян всех изучаемых дигаплоидных линий варьировала довольно значительно. Размах изменчивости составил от 1,15 до 2,59 т/га (коэффициент вариации – CV % = 25,6) (табл. 1).

Таблица 1

Показатели изменчивости дигаплоидных линий рапса ярового в селекционном питомнике по продолжительности вегетационного периода и урожайности семян, $n = 200$

Происхождение линий	Вегетационный период, сутки			Урожайность семян, т/га		
	$\bar{x}^*$	lim**	R***	$\bar{x}^*$	lim**	R***
Кубанский × Глобаль	90	88–91	3	1,57	1,30–2,25	0,95
Вестар × Ярвэллон	88	86–91	5	1,59	1,15–2,23	1,18
(Кубанский × Бронковский) × Ханна	89	86–92	6	1,90	1,21–2,59	1,38
Глобаль × Эввин	87	86–88	2	2,02	1,98–2,08	0,10

$\bar{x}^*$ – среднее значение;

lim** – диапазон варьирования;

R*** – размах изменчивости

Изменчивость по масличности семян была незначительной – от 40,3 до 46,3 % (CV % = 4,6). В селекции современных сортов и гибридов рапса весьма важными признаками являются качество масла и кормового белка. Содержание эруковой кислоты в масле не должно превышать 2 %, глюкозинолатов в семенах – не более 25 мкмоль/г. Анализ жирно-кислотного состава масла изучаемых дигаплоидных линий показал, что в нем присутствуют лишь следы эруковой кислоты (0,4–0,7 %). По содержанию глюкозинолатов в семенах наблюдалось значительное варьирование – от 8,6 до 25,1 мкмоль/г (CV % = 37,2) (табл. 2).

Таблица 2

Показатели изменчивости дигаплоидных линий рапса ярового в селекционном питомнике по масличности семян и содержанию глюкозинолатов в семенах, $n = 200$

Происхождение линий	Масличность семян, %			Глюкозинолаты, мкмоль/г		
	$\bar{x}^*$	lim**	R***	$\bar{x}^*$	lim**	R***
Кубанский × Глобаль	43,4	40,4–46,3	5,9	14,8	8,6–25,3	16,7
Вестар × Ярвэллон	42,8	40,3–45,2	4,9	15,2	8,6–20,1	11,5
(Кубанский × Бронковский) × Ханна	42,3	40,1–44,6	4,5	12,0	8,6–14,8	6,2
Глобаль × Эввин	42,1	40,6–44,0	3,4	15,5	15,6–16,2	0,6

$\bar{x}^*$ – среднее значение;

lim** – диапазон варьирования;

R*** – размах изменчивости

По комплексу хозяйственно полезных признаков наиболее перспективными оказались девять дигаплоидных линий, которые были включены в селекционную программу по трем направлениям: создание линейных сортов, создание исходного материала на основе межлинейных скрещиваний, создание стерильных аналогов лучших линий для использования их в качестве материнских форм в гетерозисной селекции. Результаты оценки хозяйственной ценности дигаплоидных линий показали, что выход образцов, перспективных для практической селекции, в данном опыте составил 4,5 %. В традиционном селекционном процессе выход перспективных гомозиготных линий составляет 3–4 %. В опытах по озимому рапсу, проведенных ранее С.Л. Горловым [2], доля линий, полученных методом инбридинга и превысивших по урожайности стандарт, составляла 10 %, а доля дигаплоидов – 8,7 %, однако самоопыленные линии превышали стандарт по этому признаку на 11–20 %, а дигаплоиды – на 11–40 %. Создание гомозиготных линий рапса достаточно длительный процесс, занимающий не менее пяти лет, в то время как на получение дигаплоидов требуется год. Полученные данные свидетельствуют об эффективности использования дигаплоидов рапса как для создания линейных сортов, так и гибридов.

В настоящее время в конкурсном испытании проходят оценку две дигаплоидные линии рапса ярового тип «00» ВН 2478 и ВН 2480, характеризующиеся высокой масличностью (46,0–46,7 %), низким содержанием глюкозинолатов в семенах (12,7–13,0 мкмоль/г), превышающие стандарт-сорт Таврион по урожаю на 9–10 % (табл. 3).

В контрольном питомнике начато испытание 20 селекционных образцов, полученных на основе межлинейных гибридов с участием дигаплоидных линий ВН 2478 и ВН 2480.

Создан стерильный аналог линии ВН 2480 для дальнейшего создания гибридов рапса.

Таблица 3

Хозяйственная характеристика лучших дигамплоидных линий рапса ярового в конкурсном испытании, 2017 г.

Линия	Происхождение	Вегетационный период, сутки	Урожайность семян		Масличность семян, %	Глюкозинолаты, мкмоль/г
			т/га	% к стандарту		
ВН 2478	Кубанский × Глобал	96	2,79	110	46,7	13,0
ВН 2480	Вестар × Ярвэлон	92	2,74	109	46,0	12,7
Таврион – стандарт	–	91	2,52	–	46,8	12,8
НСР ₀₅	–	–	0,21	–	–	–

Заключение. По комплексу хозяйственно ценных признаков выделено девять дигамплоидных линий рапса ярового. Линии включены в селекционную программу по созданию линейных сортов и гибридов на основе ЦМС–Ogura. Две линии тип «00» ВН 2478 и 2480 в конкурсном испытании превысили стандарт-сорт Таврион по урожайности семян на 9–10 %. Получен стерильный аналог линии ВН 2480 для использования в гетерозисной селекции.

Список литературы

1. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки). – М.: Агропромиздат, 1988. – 352 с.
2. Горлов С.Л. Селекция озимого рапса (*Brassica napus* L.) на гетерозис: автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Сергей Леонидович Горлов. – Краснодар, 1995. – 25 с.
3. Жамбакин К.Ж., Шамекова М.Х., Волков Д.В., Затыбеков А.К., Дауров Д.Л., Жорабекова А.К., Халиков А.Р. Получение удвоенных гаплоидов рапса // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2012. – № 3 (55). – С. 47–57.
4. Заблוצкая Е.А. Селекция капусты брокколи с использованием линий удвоенных гаплоидов // Состояние и перспективы селекции и семеноводства капустных культур. Тезисы Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 12–15 сен. 2016. – С. 26–27.
5. Карпачев В.В., Пастухов И.О. Оценка комбинационной способности андроклиных линий ярового рапса в диаллельных скрещи-

ваниях // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2017. – Вып. 1 (169). – С. 40–42.

6. Королева С.В., Дякунчик С.А. Новые подходы в селекции гибридов F₁ белокочанной капусты // Состояние и перспективы селекции и семеноводства капустных культур. Тезисы Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 12–15 сен. 2016. – С. 18–19.

7. Лукомец В.М., Тишков Н.М., Баранов В.Ф., Пивень В.Т., Уго Торро Корреа, Шуляк И.И. Методика проведения агротехнических опытов с масличными культурами. – Краснодар, 2010. – 327 с.

8. Никитина Н.И., Федоренко Т.С., Боровков А.Ю. Эмбриогенез в культуре пыльников рапса и получение гаплоидных растений // Доклады ВАСХНИЛ. – 1989. – № 9. – С. 13–16.

9. Монахос С.Г. Интеграция современных биотехнологических и классических методов в селекции овощных культур: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук / Сократ Григорьевич Монахос. – 2016. – 43 с.

10. Муравлев А.А. Культура пыльников в селекции рапса: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Анатолий Анатольевич Муравлёв. – 2007. – 24 с.

11. Пулюк Я.Э. Рапс в Беларуси (биология, селекция и технология). – Минск: «Бизнесофсет», 2007. – 239 с.

12. Carter E.M. Production of di-haploid lines of *B. napus* in vitro anther culture technique // Austral. Inst. Agr. Sci. – 1984. – V. 50. – P. 242–244.

13. Keller W.A., Armstrong K.C. Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther culture // Can. J. Bot. – 1977. – V. 55. – P. 1383–1388.

14. Pechan P.M., Keller W.A. Identification of potentially embryogenic microspores in *Brassica napus* // Physiol. Plant. – 1988. – 74. – P. 377–384.

15. Poplawska W., Bartkowiak-Broda I. and L. Szała. Genetic and breeding evaluation of double haploids lines with restorer gene for CMS Ogura system of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). // Abstracts of the 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, March 26–30, 2007. – Gp-1-8. – P. 15.

16. Rahman M., Michalak de Jiménez M. Behind the scenes of microspore-based double haploid development in *Brassica napus*: A review // J. Plant Sci. Mol. Breed. – 2016. – Vol. 5. – P. 1–9. <http://dx.doi.org/10.7243/2050-2389-5-1>.

17. Shamekova M.H., Volkov D.V., Zatybekov A.K., Zhambakin K.Zh. Double haploid production of spring rapeseed with the value traits // NEWS of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Biological and Medical. – 2015. – V. 3. – No 309. – P. 5–11.

18. Thomas E., Wenzel G. Embryogenesis from microspores of *Brassica napus* // Z. Pflanzenzucht. – 1975. – V. 74. – P. 77–81.

References

1. Dospekhov B.A. A methodology of field experiment (contain basic statistics treatment methods). – M.: Agropromizdat, 1988. – 352 p.

2. Gorlov S.L. Breeding of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) for heterosis: author's abstract of PhD thesis. – Krasnodar, 1995. – 25 p.

3. Zhambakin K.Zh., Shamekova M.Kh., Volkov D.V., Zatybekov A.K., Daurov D.L., Zhorabekova A.K., Khalikov A.R. Development of double haploids of rapeseed // Reporter of KazSU. Biological series. – 2012. – No 3 (55). – P. 47–57.

4. Zabolotskaya E.A. Breeding of broccoli using lines of double haploids // State and perspectives of breeding and seeds growing of cruciferous crops. Abstracts of International scientific and practical conference, Moscow, Sept. 12–15, 2016. – P. 26–27.

5. Karpachyov V.V., Pastukhov I.O. Estimation of combining ability of androgenic spring rapeseed lines in diallel crosses // Oil Crops. Scientific and technical bul. of VNIIMK. – 2017. – Vol. 1 (169). – P. 40–42.

6. Korolyova S.V., Dyakunchik S.A. New approaches in breeding of cabbage F₁ hybrids // State and perspectives of breeding and seeds growing of cruciferous crops. Abstracts of International scientific and practical conference, Moscow, Sept. 12–15, 2016. – P. 18–19.

7. Lukomets V.M., Tishkov N.M., Baranov V.F., Piven V.T., Hugo Toro Correa, Shulyak I.I. A methodology of agro-technological trials with oil crops. – Krasnodar, 2010. – 327 p.

8. Nikitina N.I., Fedorenko T.S., Borovkov A.Yu. Embryogenesis in anther culture and development of haploid plants // Reports of VASKhNIL. – 1989. – No 9. – P. 13–16.

9. Mohakhos S.G. Integration of modern biotechnological and classic methods in breeding of vegetable crops: author's abstract of PhD thesis. – 2016. – 43 p.

10. Muravlyov A.A. Another culture in rapeseed breeding: author's abstract of PhD thesis. – 2007. – 24 p.

11. Pilyuk Ya.E. Rapeseed in Belarus (biology, breeding and technology). – Minsk: "Biznesofset", 2007. – 239 p.

12. Carter E.M. Production of di-haploid lines of *B. napus* in vitro anther culture technique // Austral. Inst. Agr. Sci. – 1984. – V. 50. – P. 242–244.

13. Keller W.A., Armstrong K.C. Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther culture // Can. J. Bot. – 1977. – V. 55. – P. 1383–1388.

14. Pechan P.M., Keller W.A. Identification of potentially embryogenic microspores in *Brassica napus* // Physiol. Plant. – 1988. – 74. – P. 377–384.

15. Popławska, W., I. Bartkowiak-Broda and L. Szała. Genetic and breeding evaluation of doubled haploid lines with restorer gene for CMS ogura system of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) // Brassica. – 2007. – No 9. – P. 29–32.

16. Rahman M., Michalak de Jiménez M. Behind the scenes of microspore-based double haploid development in *Brassica napus*: A review // J. Plant Sci. Mol. Breed. – 2016. – 5:1. <http://dx.doi.org/10.7243/2050-2389-5-1>.

17. Shamekova M.H., Volkov D.V., Zatybekov A.K., Zhambakin K.Zh. Double haploid production of spring rapeseed with the value traits // NEWS of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of Biological and Medical. – 2015. – V. 3. – Number 309. – P. 5–11.

18. Thomas E., Wenzel G. Embryogenesis from microspores of *Brassica napus* // Z. Pflanzenzucht. – 1975. – V. 74. – P. 77–81.

Получено: 09.10.2019 Принято: 11.11.2019

Received: : 09.10.2019 Accepted: 11.11.2019