УДК 633.85:631.523

С. П. Вишневський
Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН

СТВОРЕННЯ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ГІБРИДІВ РІПАКУ ОЗИМОГО

Представлені результати досліджень зі створення вихідного матеріалу для селекції гібридів ріпаку озимого.

Дослідження проводили в 2015 – 2017 роках з пошуку моногенного відновлювача фертильності і закріплювача стерильності на зразок озимого ріпаку із цитоплазматичною чоловічою стерильністю типу CMS ogura.

Ключові слова: *озимий ріпак, гідриди, цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦЧС), гетерозис, насіннєва продуктивність, якісні показники олії.*

Ріпак – факультативний самозапилювач, ступінь перехресного запилення якого залежно від умов навколишнього середовища становить від 15 до 45 % [1]. Тому для забезпечення 100 % гібридності насіння важливо мати ефективний спосіб запобігання самозапиленню.

Щоб отримувати високі і сталі врожаї озимого ріпаку, потрібно як найповніше використовувати ефект гетерозису, прояв якого найвищий у гібридів першого покоління за умов повного запилення материнських квіток пилком чоловічої рослини.

До відкриття явища чоловічої стерильності цієї мети досягали ручним видаленням пиляків рослин материнської форми на придатних для цього культурах, зокрема кукурудзі. Щодо ріпаку, то через особливості цвітіння і будови квіток ручна кастрація може бути використана у цієї рослини тільки з селекційною метою. Відкриття цитоплазматичної чоловічої стерильності значно здешевило процес виробництва насіння, оскільки у гібридизації брав участь стерильний материнський компонент, що виключало необхідність кастрації [2, 3].

Селекція комерційних гібридів озимого ріпаку потребує створення материнської лінії стерильної форми, закріплювача стерильності, що дає змогу розмножувати стерильну форму, та батьківську лінію відновлювача фертильності стерильної форми.

У озимого ріпаку селекційні програми зі створення гібридів базуються на таких основних типах ЦЧС: CMS ogura (Франція), CMS polima (Китай) і MSL-CMS (патент «NPZ Lembke», Німечина), а також CMS napus і CMS junsea. [4, 5, 6, 7, 8].

Із загальновідомих положень випливає, що високий ефект гетерозису буде проявлятися у гібридів F_1 за умов повного запилення квіток материнської пилком чоловічої рослини. Ступінь гетерозису у озимого ріпаку в середньому 50 % з діапазоном в межах від 20 до 80 % [9]. Зрозуміло, що це можливо за використання материнської форми з цитоплазматичною чоловічою стерильністю, а чоловіча форма повинна відновлювати фертильність. Для цього потрібно материнську форму перевести на стерильну основу, а чоловічому компоненту надати властивість відновлення фертильності [10].

Ідентифіковані гени, супресуючі феномен ЦЧС

Вид	Тип ЦМС	Локус ЦЧС	Ген *Rf*	Білок, кодований геном *Rf*	Функція гена Rf	Посилання
Brassica napus	Ogura	*orf138/orf125*	*Rfo*	PPR	Після - транскрипційна регуляція	Brown et al., 2003 Desloire et al., 2003

Матеріали, умови і методика досліджень. Вихідним матеріалом слугували сорти, гібриди, лінії індивідуального добору, та інцухту одержані в Інституті кормів та сільського господарства Поділля НААН колекційні зразки вітчизняної та зарубіжної селекції ріпаку озимого. Для вивчення були взяті також 31 генотип озимого ріпаку, який ми використовували у 2015 році в якості батьків для запилення із формою цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС), отриманих з Уманського національного університету садівництва.

Дослідження проводили в 2015 – 2017 рр. у селекційній сівозміні в якій ґрунти за агрономічною характеристикою були переважно сірі опідзолені, шар ґрунту 0 – 30 см, гумусу 2,0 %, гідролізованого азоту 9,6 мг/100 г, рухомого фосфору за Чіріковим 13,0 мг/100 г, обмінного калію за Чіріковим 11,5 мг/100 г, гідролітична кислотність Hr 3,5 мк.-екв./100 г ґрунту, сума поглинутих основ 13 мк.-екв./100 г, pH – 5,5.

За агрокліматичними показниками територія господарства відноситься до зони з помірно-континентальним кліматом. Найближча метеостанція розташована в м. Вінниця. Метеорологічні місячні дані показники середньомісячної температури та кількості опадів показані в таблиці 1.

Підбір батьківського компоненту, схрещування проводили з урахуванням багаторічної пробробки колекційного і новоствореного гібридного матеріалу в попередні роки за продуктивністю насіння, зимостійкістю, олійністю, довжиною вегетаційного періоду, ураженням збудниками хвороб і пошкодженням шкідниками.

Отримано 27 гібридів F_1 озимого ріпаку, які оцінені продовж 2015 – 2016 років у чотирьох повтореннях за агрономічними ознаками: урожай насіння, вміст ерукової кислоти і глюкозинолатів, перезимівля, відсоток прояву ознаки стерильності в гібридів F_1. Основна мета полягала у пошуку відновлювача фертильності і закріплювача стерильності на зразок озимого ріпаку (ЦЧС У) в схрещуваннях і виявленні кандидатів для перспективних гібридних комбінацій.

1. Середньорічна температура повітря та сума атмосферних опадів у роки проведення досліджень

Період, роки	Місяці											
	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
Сума опадів, мм												
2015 – 2016	4	35	46	54	14	35	50	19	30	54	52	43
2016 – 2017	31	3	63	52	36	28	39	63	40	28	20	50
Ср. баг.	68,0	46,0	38,0	42,0	44,0	40,0	38,0	35,0	49,0	63,0	87,0	92,0
Сума температур, °С												
Період	VIII	IX	X	XI	XII	I	II	III	IV	V	VI	VII
2015 – 2016	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	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. баг.	17,7	13,4	7,7	1,9	-2,5	-5,8	-4,3	0,2	8,0	14,1	17,1	18,3

Для переведення фертильної материнської форми на стерильну основу, стерильну форму запилюють пилком фертильної материнської форми, яку потрібно перевести на стерильну основу.

У результаті 5 – 6-кратного бекросу лінія має майже весь свій ядерний матеріал, а цитоплазму – з чоловічою стерильностю.

Створенню лінії відновника фертильності в селекції з використанням ЦЧС належить центральне місце. Пояснюється це тим, що серед самозапилених ліній, які використовуються в практичній роботі такі що відновлюють фертильність трапляються рідко до 10 % (В. О. Гонтаровський) [11].

Створення відновників ґрунтується на методі насичувальних схрещувань (бекросу). Знайдений відновник фертильності запилюють пилком потрібної селекціонеру лінії або сорту. А також використовують і самозапилення рослин отриманих у результаті схрещувань гідридів F_1 з яких були виділенні фертильні форми.

Одночасно з другого бекросу кожну рослину перевіряють на відновлювальну здатність, запилюючи її пилком стерильну форму, для якої створюється відновник. Для подальшого насичування використовують рослини, які забезпечують в аналізуючому схрещуванні найбільший вихід фертильних рослин [12, 13, 14].

Оцінка гібридів F_1 озимого ріпаку проводилася на 3-х рядкових ділянках площею 2,7 м^2 в оточенні батьківської форми в чотирьох повтореннях. Гібриди порівнювалися за господарсько цінними ознаками, окрім батьківської форми із сортом стандартом Чорний велетень.

Результати досліджень. Після проведення схрещування (2015 р.) стерильної форми ріпаку озимого із фертильними формами ми отримали гібридне насіння у 27 комбінаціях, яке нами було висіяне в гібридному розсаднику 2015 р. За класичною схемою посіву ділянок гібридизації 2 : 1, які враховували б і біологічні особливості цвітіння ріпаку, і особливості його запилення.

Під час цвітіння 2016 року в посівах гібридів F_1 була проведена ідентифікація рослини, які мали стерильні квіти, а також рослини із фертильними квітами. На ці рослини були поміщені етикетки де вказувався номер ділянки та тип квітів (стерильні чи фертильні). Показники стерильності в гібридів F_1 подані в таблиці 2.

2. Показники прояву ознаки стерильності селекційних номерів 2016 р.

Номери	Відсоток стерильності, %
St Чорний велетень	0
♀(ЧЦС) × ♂ Антарія	92
♀(ЧЦС) × ♂ (Вотан × Ліраджет)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (НПЦ 9800 × Ліраджет)	90
♀(ЧЦС) × ♂ Чорний велетень	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Лібея × Ліраджет)	95
♀(ЧЦС) × ♂ (Відбір Чорний велетень × Отаман)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Данте × Дар Ланів)	64
♀(ЧЦС) × ♂ (Ліраджет × Livins)	97
♀(ЧЦС) × ♂ (Ліраджет × Лібея)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (НПЦ 9800 × Вотан)	92
♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Арт1	97
♀(ЧЦС) × ♂ (Вотан × Livins)	97
♀(ЧЦС) × ♂ (Livins × Барос)	75
♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Антарія	88
♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Чорний велетень	86
♀(ЧЦС) × ♂ (Дар Ланів × Алігатор)	100
♀(ЧЦС) × ♂ Гіпаніс	96
♀(ЧЦС) × ♂ (Ліраджет × Лібея)	100
♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Горизонт	50
♀(ЧЦС) × ♂ (Ліраджет × Світоч)	80
♀(ЧЦС) × ♂ Відбір (Ліраджет × Лібея)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Вотан × Livins)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Лібея × Світоч)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Чорний велетень × Отаман)	100
♀(ЧЦС) × ♂ (Амор × Чорний велетень)	—
♀(ЧЦС) × ♂ (Алігатор × Дар Ланів)	—
♀(ЧЦС) × ♂ (Атлант × Алігатор)	50

Після дозрівання рослини із стерильним типом цвітіння збирали і обмолочували окремо від рослин з фертильним типом цвітіння. Після проведення аналізу насіння на вміст глюкозинолатів та ерукової кислоти, показників урожайності були виділені кращі комбінації на базі котрих буде проводитись створення закріплювача стерильності та відновлювача фертильності: ♀(ЧЦС) × ♂ (НПЦ 9800 × Ліраджет), ♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Арт 1, ♀(ЧЦС) × ♂ (Вотан × Livins), ♀(ЧЦС) × ♂ (Livins × Барос), ♀(ЧЦС) × ♂ Відбір Антарія та комбінацій ♀(ЧЦС) × ♂ (Ліраджет × Лібея), ♀(ЧЦС) × ♂ (Вотан × Livins).

У 2016 році була проведена гібридизація на стерильну форму ще за 26 комбінаціями. Посів ділянок для проведення бекросу відібраних номерів 2016 року, окремо висівалось насіння отримане від стерильних росли в оточенні батьківської форми, і окремо висівалось насіння отримане від фертильних рослин. Під час цвітіння на ділянках проводився підрахунок кількості стерильних та фертильних рослин та проводилася гібридизація. Результати підрахунків подані в таблиці 3.

3. Показники прояву ознаки стерильності селекційних номерів 2017 р.

Номери	Відсоток стерильності %
1	2
1. St Чорний велетень	0
2. (ЧЦС) × (Світоч × Отаман)	97
3. (ЧЦС) × (Дар ланів × Лівінс)	92
4. (ЧЦС) × (Форте × Барос)	100
5. (ЧЦС) × (Форте × Чорний велетень)	100
6. (ЧЦС) × (Ліраджет × Дар ланів)	100
7. (ЧЦС) × (Вікінг × Алігатор)	65
8. (ЧЦС) × (Дар ланів × Чорний велетень)	90
9. (ЧЦС) × (Лібея × Лівінс)	10
10. (ЧЦС) × (Діана × Світоч × Б × Діана)	97
11. (ЧЦС) × (Віпер × Алігатор)	77
12. (ЧЦС) × (Лібея × Світоч × Горизонт × Л184)	55
13. (ЧЦС) × (Вікінг × Алігатор × Вісбі)	90
14. (ЧЦС) × (Чорний велетень × Горизонт × Данте)	82
15. (ЧЦС) × (Нельсон × Горизонт)	81
16. (ЧЦС) × (PR45Д03 × Горизонт)	100
17. (ЧЦС) × (Горизонт × Л184 × Дар ланів)	94
18. (ЧЦС) × (Атлант × Горизонт)	98
19. (ЧЦС) × (Форте × Світоч)	93
20. (ЧЦС) × (Атлант × Алігатор × П145А01)	97
21. (ЧЦС) × (НПЦ 9800 × Ліраджет)	91
22. (ЧЦС) × АРТ1	97
23. (ЧЦС) × (Вотан × Лівінс)	98
24. (ЧЦС) × (Лівінс × Барос)	97
25. (ЧЦС) × Відбір Антарія	83
26. (ЧЦС) × (Ліраджет × Лібея)	97
27. (ЧЦС) × (Вотан × Лівінс)	94
ЧЦС Горизонт Стерильний	82
ЧЦС Горизонт Стерильний	67
ЧЦС Горизонт Стерильний	73
ЧЦС Горизонт Стерильний	87
ЧЦС Антарія Стерильний	86
ЧЦС Антарія Стерильний	100
ЧЦС Антарія Стерильний	75
ЧЦС Антарія Стерильний	100
ЧЦС Антарія Фертильна	20
ЧЦС Відбір Антарія Стерильний	100
ЧЦС Відбір Антарія Фертильна	50

1	2
ЧЦС Арт1 Стерильний	94
ЧЦС Арт1 Фертильний	20
ЧЦС (Лівінс × Барос) Стерильний	83
ЧЦС (Ліраджет × Лібея) Стерильний	85
ЧЦС (НПЦ 9800 × Ліраджет) Стерильний	96
ЧЦС (НПЦ 9800 × Ліраджет) Фертильний	10
ЧЦС (Вотан × Лівінс) Стерильний	87
ЧЦС (Вотан × Лівінс) Фертильний	35
ЧЦС (Вотан × Лівінс) Фертильний	33
ЧЦС (Вотан × Лівінс) Фертильний	25

За представленими в таблиці 3 результатами ми спостерігаємо тенденцію, що на ділянках де було висіяне насіння з відібраних фертильних рослин відсоток прояву ознаки стерильності не перевищував 50 %, а в середньому становив 29 %. Ці показники розщеплень у лініях другого та третього бекросу на стерильні і фертильні рослини відповідають стандартній моногенній моделі 3 : 1 за винятком комбінації 38 ЧЦС Відбір Антарія, розрахунки представлені в таблиці 4. На ділянках засіяних насінням із стерильних рослин ми маємо таку динаміку прояву ознаки стерильності. Найменший відсоток прояву ознаки склав 83 %, а середній показник – 91 %.

4. Розщеплення фертильних рослин, за ознакою «стерильність-фертильність», отриманих у відповідності фактичних даних до математичної моделі 3 : 1

Варіант	Загальна кількість рослин, шт.	Фертильні рослини, шт.	Стерильні рослини, шт.	Очікуване співвідношення	Математична модель		Відхилення математичної моделі від фактичних	χ^2
					3/4	1/4		
ЧЦС Антарія	20	16	4	3:1	15	5	1,0	1,533
ЧЦС Арт1	20	16	4	3:1	15	5	1,0	0,267
ЧЦС НПЦ 9800 × Ліраджет	20	18	2	3:1	15	5	3,0	2,400
ЧЦС Вотан × Лівінс	20	13	7	3:1	15	5	2,0	1,067
ЧЦС Вотан × Лівінс	18	12	6	3:1	13,5	4,5	1,5	0,667
ЧЦС Вотан × Лівінс	24	18	6	3:1	18	6	0,0	0,000
Сума	122	93	29	3:1	91,5	30,5	1,5	0,098

За показниками таблиці критерій χ^2 Пірсона відповідність цих даних теоретичному співвідношенню 3 : 1 чи 75 : 25 % склав у фертильних ліній від 0 до 3 і в загальному 1,5. Дані вказують, що в загальному даний критерій був набагато нижчий стандартного рівня χ^2 = 3,84 при рівні значущості P = 0,05. Це свідчить, що в нашому випадку моногенна модель успадкування підтверджується, і є перспективним показником для створення відновлювача фертильності

Висновки. Отримані результати підтверджують моногенну природу відновлення фертильності гібридів озимого ріпаку. Моногенний тип відновлення є проявом відомого в світової літературі ідентифікованого гена *Rfo*, присутнього в хромосомі редьки, інтегрованого в геном ріпаку який відноситься до типу CMS ogura.

Виділено 6 ліній – відновлювачів фертильності для подальшої селекційної роботи.

Виявлені нами дані дають змогу намітити напрямок гетерозисної селекції ріпаку, що дає можливість проводити відбір фертильних рослин починаючи з гібридів F_1, що є передумовою прискорення процесу створення гетерозисних гібридів.

Бібліографічний список

1. *Гольцова А. А.* Рапс, сурепица / [Гольцова А. А., Ковальчук А. М., Абрамов В. Ф., и др.]. – М.: Колос, 1983. – 192 с.
2. *Полоцький М. Я.* Селекція і насінництво сільськогосподарських рослин / [М. Я. Молоцький, С. П. Васильківський, В. І. Князюк, В. А. Власенко]. – К.: 2006: Вища освіта. – 463 с.
3. *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.
4. *Fan Z.* Maintainers and restorers for three male sterility inducing cytoplasms in rape (Brassica napus L.). / Fan Z., Stefansson B. R., Sernyk J. L. – Canad. J. Plant Sci. – 1986. – 66. – P. 229 – 234.
5. *Brown G. G.* The radish Rfo restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats / [Brown G. G., Formanova N., Jin H., Wargachuk R., Dendy C., Patil P., Laforest M., Zhang J., Cheung W. Y., Landry B.S]. – Plant J. 2003. V. 35. № 2. P. 262 – 272.
6. *Desloire S.* Identification of the fertility restoration locus, Rfo, in radish, as a member of the pentatricopeptide-repeat protein family / [Desloire S., Gherbi H., Laloui W., Marhadour S., Clouet V., Cattolico L., Falentin L., Giancola S., Renard M., Budar F., Small I., Caboche M., Delourme R. M., Bendahmane A]. – EMBO Rep. 2003. V. 4. № 6. P. 588 – 594.
7. *Jean M.* Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the «Polima» cytoplasmic male sterility in canola (Brassica napus L.) using DNA markers / Jean M., Brown G. G., Landry B. S. // Article in Theoretical and Applied Genetics. – 1997. – August. – P. 321 – 328.
8. *Труды* по прикладной ботанике, генетике и селекции. Том 170. СПб.: ВИР, 2012 р. С. – 255

9. *Івко Ю. О.* Ефект гетерозису у гібридів F_1 ріпаку озимого / Ю. О. Івко // Вісник. Сумський. нац. аграр. ун-ту. Серія «Агрономія і біологія». – 2010. – Вип. 10. – С. 125 − 129.

10. *Парій Ф. М.* Створення покращених закріплювачів стерильності буряка цукрового / Парій Ф. М., Андрощук М. П. Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва – Умань, 2012. Вип. 80. – Ч. 1: АГРОНОМІЯ. – 204 с.

11. Гонтаровский В. А. – Харьков, 1986. – 47 с. 12. Гонтаровский В. А. Комплементарное взаимодействие Rf-генов в цитоплазме молдавского типа ЦМС кукурузы / В. А. Гонтаровский // Цитология и генетика. – 2003. – Т. 37, № 3 – С. 16 – 23.

12. *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. [Електронний ресурс]: http://www.regional.org.au/au/gcirc.

13. *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. [Електронний ресурс]: http://www.regional.org.au/au/gcirc.

14. *Черненко А. Д.* Генетичний контроль гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності ріпаку озимого / Черненко А. Д., Парій Ф. М. Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва – Умань, 2012. Вип. 80. – Ч. 1: Агрономія. – 204 с.

Надійшла до редколегії 28 02. 2018 р.
Рецензент М. І. Кондратенко, кандидат сільськогосподарських наук