

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-42-44>
УДК 635.132:581.16

Корнев А.В.¹, Ховрин А.Н.¹,
Леунов В.И.², Деревщюков С.Н.³,
Сычева Л.В.³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства» 140153, Россия, Московская область, Раменский район, д. Верея, стр.500
E-mail: alexandrvg@gmail.com

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет — МСХА имени К.А. Тимирязева» 127550, Россия, г. Москва, Тимирязевская ул., 49

³ Воронежская овощная опытная станция — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства» 396116, Россия, Воронежская область, Верхнехавский район, поселок НИИОХ, улица Садовая, д. 3А

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Корнев А.В., Ховрин А.Н., Леунов В.И., Деревщюков С.Н., Сычева Л.В. Поиск закрепителей стерильности моркови столовой в сорте Рогнеда. *Овощи России*. 2020;(4):42-44. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-42-44>

Поступила в редакцию: 23.04.2020

Принята к печати: 06.07.2020

Опубликована: 25.08.2020

Alexander V. Kornev¹,
Alexander N. Khovrin¹,
Vladimir I. Leunov²,
Sergey N. Derevshchikov³,
Lidiya V. Sycheva³

¹ All-Russian Research Institute of Vegetable Growing — branch of Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center 500, Vereya, Ramenskiy district, Moscow region, Russia, 140153
E-mail: alexandrvg@gmail.com

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy 49, Timiryazevskaya street, Moscow, Russia, 127550

³ Voronezh Vegetable Experimental Station — branch of Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center 3A, NIIOKH, Verkhnekhavskiy district, Voronezh region, Russia, 396116

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Kornev A.V., Khovrin A.N., Leunov V.I., Derevshchikov S.N., Sycheva L.V. Search for cytoplasmic male sterility plants and its maintainer plants of carrots in Rogneda variety. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(4):42-44. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-42-44>

Received: 23.04.2020

Accepted for publication: 06.07.2020

Accepted: 25.08.2020

Поиск закрепителей стерильности моркови столовой в сорте Рогнеда



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Гибридное семеноводство моркови столовой чаще ведут на трехлинейной основе, которая предполагает наличие мужски стерильной материнской линии, линии закрепителя стерильности и отцовской линии гибрида. Для размножения мужски стерильной линии необходима линия-закрепитель стерильности. Процесс создания изогенной пары — мужски стерильная линия — закрепитель стерильности представляет большую сложность. В качестве закрепителя стерильности необходимо использовать только растение — гомозиготу Цит N msms по обеспечивающим стерильность генам ядра, но с нормальной цитоплазмой. Цель работы — создание закрепителей стерильности моркови столовой из популяции сорта Рогнеда.

Материал и методика. Исследования проведены в 2016 году на экспериментальной базе Воронежской овощной опытной станции (Воронежская область); в 2017-2019 годах — в селекционном центре ВНИИО-филиала ФГБНУ ФНЦО (Московская область). Материалом для работы служили семенные растения и корнеплоды сорта Рогнеда и гибридные, инбредные, беккроссные потомства, полученные из данной популяции. Методы селекции: гибридизация, инбридинг. Применяемые скрещивания: простые прямые и сложные возвратные (беккроссы), инбридинг.

Результаты. Проведенные исследования выявили возможность поиска закрепителя стерильности в сорте Рогнеда. Инбредное потомство Р43ф является потенциальной линией В, которая поддерживает признак ЦМС петалоидного типа на уровне 100%. Из 67 гибридных потомств оставили одно Р43ст x Р43ф, в котором все растения с мужской стерильностью. 65 гибридных потомств содержали растения как стерильные, так и фертильные. Связанные с ними 65 инбредных потомств имели стерильные и фертильные растения, т.е. пытаться получить из таких фертильных растений закрепитель стерильности нет смысла. Гибридное потомство Р4ст x Р4ф имело 100% фертильных растений. Инбредное потомство Р4ф было представлено только фертильными растениями.

Ключевые слова: морковь столовая, цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), закрепитель стерильности, беккроссы.

Search for cytoplasmic male sterility plants and its maintainer plants of carrots in Rogneda variety

ABSTRACT

Relevance. Hybrid seed production of carrots is carried out on a three-line basis, which suggests the presence of a male sterile maternal line and a fertile paternal line. For the reproduction of a male sterile line, a maintainer line is needed. The process of creating an isogenic pair of a manly sterile line — a maintainer line is of great complexity. As a maintainer line, it is necessary to use only a plant — a homozygote Cyt N msms for the core genes providing sterility, but with a normal cytoplasm. The purpose of the work is the creation of maintainer line for the sterility of carrots from the population of the Rogneda variety.

Methods. Research were carried out: in 2016, at the experimental base of the Voronezh Vegetable Experimental Station (Voronezh Region); in 2017 - 2019, at the breeding center of All-Russian Research Institute of Vegetable Growing — branch of Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Scientific Vegetable Center (Moscow Region). The material for the work was seed plants and roots of the Rogneda variety and hybrid, inbred, backcross progenies obtained from this population. Breeding methods: hybridization, inbreeding. Crosses used: simple direct and complex return (backcrosses), inbreeding.

Results. Research revealed the possibility of searching for a maintainer line in the Rogneda variety. The P43f inbred progeny is potential line B, which maintains the CMS trait of the petaloid type at 100%. Of the 67 hybrid progenies, only P43st x P43f was left, in which all plants with male sterility. 65 hybrid progenies contained both sterile and fertile plants. Associated 65 inbred progenies had sterile and fertile plants, i.e. it makes no sense to try to obtain a maintainer line is needed. The process of creating an isogenic pair of a manly sterile line — a maintainer line from such fertile plants. Hybrid progeny of P4st x P4f had 100% fertile plants. The inbred progeny of P4f was represented only by fertile plants.

Keywords: carrots, cytoplasmic male sterility (CMS), maintainer of sterility, backcrosses.

Введение

Гибридное семеноводство моркови ведут на трехлинейной основе, которая предполагает наличие мужски стерильной материнской линии и фертильной отцовской линии [1, 2, 3]. Такая схема позволяет получать с растений мужски стерильной материнской линии F₁-гибридные семена без примеси семян от самоопыления. Часто используют ядерно-цитоплазматическую мужскую стерильность моркови типа петалоид, при которой у цветков вместо тычинок формируется дополнительный круг лепестков. Для размножения мужски стерильной линии необходима линия-закрепитель стерильности. Процесс создания изогенной пары мужски стерильная линия – закрепитель стерильности представляет большую сложность. В качестве закрепителя стерильности необходимо использовать только растение – гомозиготу Цит N msms по обеспечивающим стерильность генам ядра, но с нормальной цитоплазмой. При выборе исходного материала для поиска таких растений полезно было бы сразу исключать растения со стерильной цитоплазмой, так как такие растения могут быть фертильными за счет генов ядра (Цит S Msms, Цит S MsMs), но получить на их основе фертильный аналог материнской линии не получится [4]. В настоящее время применяют метод молекулярно-генетического анализа для оценки цитоплазмы растений моркови и был разработан ряд праймеров [5].

Цель работы – создание закрепителей стерильности моркови столовой из популяции сорта Рогнеда.

Материал и методы

Исследования проведены: в 2016 году на экспериментальной базе Воронежской овощной опытной станции (Воронежская область) на посадках моркови столовой сорта Рогнеда площадью 0,1 га; в 2017-2019 годах – в селекционном центре ВНИИО-филиале ФГБНУ ФНЦО (Московская область).

Характеристика сорта Рогнеда. Сорт выведен на Воронежской овощной опытной станции НИИОХ. Среднеспелый – период от появления массовых всходов до технической спелости корнеплодов составляет 105-110 суток. Общая урожайность 60-80 т/га. Выход товарных корнеплодов 85-90%. Корнеплоды массой 90-110 г, с гладкой поверхностью и слабовыраженными глазками, мякоть и сердцевина ярко-оранжевые. Лежкость корнеплодов до 93%.

Материалом для работы служили семенные растения и корнеплоды сорта Рогнеда и гибридные, инбредные, бек-кроссные потомства, полученные из данной популяции. В процессе селекции линий из сортопопуляции Рогнеда было сделано 4 поколения инбридинга.

Методы селекции: гибридизация, инбридинг. Применяемые скрещивания: простые прямые и сложные возвратные (бек-кроссы), инбридинг.

При проведении скрещиваний применяли одиночные изоляторы (рукава). Опыление цветков проводили вручную (ватными тампонами в утренние часы).

Корнеплоды высаживали в первой декаде апреля (Воронежская область), мая (Московская область) вручную с шагом посадки 70 см x 20 см. Во время цветения визуально анализировали растения по признаку стерильность – фертильность. Срезку зонтиков проводили по мере созревания (20 августа – 15 сентября).

Посев моркови столовой в Московской области проводили ручной селекционной сеялкой во второй декаде мая с междурядьями 70 см при норме высева 800-900 тысяч всхожих семян на гектар. Уборку осуществляли во второй декаде сентября.

Площадь учетной делянки 7,0 м², делянки однорядковые без повторений.

На хранение корнеплоды закладывали в полиэтиленовые пакеты, предварительно обработав фунгицидом «Максим» (норма расхода 1 л/т). Хранили при температуре 1...3 °С и относительной влажности 70-75%.

В целом, метеорологические условия 2016-2019 годов в Воронежской и Московской областях складывались благоприятно для формирования корнеплодов и созревания семян моркови.

Результаты и их обсуждение.

В современной селекции в подавляющем большинстве случаев селекционный процесс состоит из 3 основных этапов:

1. создание популяций для отбора;
2. отбор элитных растений;
3. испытание потомств отобранных растений.

В нашей работе мы пользовались уже популяцией сорта моркови Рогнеда, затем проводили отбор стерильных и фертильных растений (рис.) для проведения простых прямых скрещиваний, потом испытывали гибридные и самоопыленные потомства, впоследствии проводили сложные возвратные скрещивания и дальнейшее испытание бек-кроссных потомств.



Рис. Соцветия стерильного (слева) и фертильного (справа) растений моркови сорта Рогнеда
Fig. Inflorescences of sterile (left) and fertile (right) plants of carrots of variety Rogneda

По времени исследований процесс можно представить так.

2016 год (1 семенной год): поиск растений с мужской стерильностью типа петалоид (тип браун не встречался), скрещивание найденных растений в пределах сорта Рогнеда соседними фертильными растениями (потенциальными закрепителями стерильности), самоопыление отцовских растений. Всего было проведено 69 прямых скрещиваний, получено 67 гибридных и 69 инбредных потомств.

Цветки стерильной формы растений сорта Рогнеда имели высокий процент завязывания семян: продуктивность составляла 7-15 г/растение. Цветки фертильной формы растений сорта Рогнеда имели низкий процент завязывания семян (т.к. было самоопыление): продуктивность составляла 0,1-1,2 г/растение. Стерильные и фертильные растения совпадали по времени цветения.

2017 год: выращивание маточников, полученных в предыдущем году гибридных и инбредных потомств, оценка их по урожайности, выровненности, и форме корнеплода. Все корнеплоды гибридных потомств имели форму, присущую сорту Рогнеда, были выровнены, урожайность варьировала от 6,8 до 8,9 кг/м², а после последующих

самоопылений, вследствие возникшей инцухт-депрессии показали урожайность 4,3-6,8 кг/м², имели форму, типичную для сорта, были выровнены с большой долей корнеплодов, имеющих более короткую длину, чем у Рогнеды. Сохранность маточников – 90%.

2018 год (2 семенной год): проверка потомств (табл.).

Таблица. Проявление признака ЦМС у гибридных и инбредных потомств при создании закрепителей стерильности из сорта Рогнеда (Московская область, 2018 год)
Table. Demonstration of the CMS trait in hybrid and inbred progenies at creating sterility maintainer from the Rogneda variety (Moscow Region, 2018)

Гибридные, инбредные потомства	Степень стерильности, %
P1ст x P1ф	30
P1ф	0
P4ст x P4ф	0
P4ф	0
P11ст x P11ф	54
P11ф	30
P31ст x P31ф	24
P31ф	0
P40ст x P40ф	69
P40ф	12
P43ст x P43ф	100
P43ф	0
P55ст x P55ф	69
P55ф	38
P61ст x P61ф	37
P61ф	0

Из 67 гибридных потомств оставили одно полученное от пары P43ст x P43ф, в котором все материнские растения с мужской стерильностью. Соответственно, сохранили самоопыленное потомство P43ф, которое при скрещивании со стерильным растением способствовало появлению 100% растений с ЦМС в потомстве и при этом имело после инбридинга только фертильные растения. Это и есть линия-закрепитель стерильности. Для дополнительной проверки и доказательства создания закрепителя стерильности проводили беккросс и самоопыление P43ф.

65 гибридных потомств содержали растения как стерильные, так и фертильные. Связанные с ними 65 инбредных потомств имели стерильные и фертильные растения, т.е. пытаться получить из таких фертильных растений закрепитель стерильности нет смысла. Данные потомства браковали.

Гибридное потомство P4ст x P4ф имело 100% фертильных растений. Инбредное потомство P4ф было представлено только фертильными растениями. Для дополнительной проверки проводили беккросс и самоопыление P4ф. P4ф в дальнейшем будет использоваться для создания отцовских компонентов – линий С.

2019 год: выращивание маточников, полученных в предыдущем году беккроссных и инбредных потомств, оценка их по урожайности, выровненности, форме. Все корнеплоды беккроссных потомств имели форму, присущую сорту Рогнеда, были выровнены, урожайность варьировала от 6,2 до 8,0 кг/м². Маточники самоопыленных потомств вследствие инбредной депрессии показали урожайность 4,0-5,9 кг/м², имели форму, типичную для сорта, были выровнены, но были представлены корнеплодами с укороченной длиной, чем у Рогнеды. Сохранность маточников – 87%.

Закключение

Проведенные нами исследования показали возможность поиска закрепителя стерильности в сорте Рогнеда. Инбредное потомство P43ф является потенциальной линией В, которая поддерживает признак ЦМС петалоидного типа на уровне 100%.

Об авторах:

Корнев Александр Владимирович – кандидат с.-х. наук, научный сотрудник отдела селекции и семеноводства, <https://orcid.org/0000-0003-1373-3302>

Ховрин Александр Николаевич – кандидат с.-х. наук, доцент, главный научный сотрудник отдела селекции и семеноводства, <https://orcid.org/0000-0003-4297-2687>

Леунов Владимир Иванович – доктор с.-х. наук, профессор кафедры овощеводства

Деревщюков Сергей Николаевич – кандидат с.-х. наук, руководитель филиала

Сычева Лидия Владимировна – зам. руководителя по научной работе филиала

About the authors:

Alexander V. Kornev – Cand. Sci. (Agriculture), Researcher, Breeding and Seed Production Department, <https://orcid.org/0000-0003-1373-3302>

Alexander N. Khovrin – Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor, Chief Researcher of the Breeding and Seed Production Department, <https://orcid.org/0000-0003-4297-2687>

Vladimir I. Leunov – Doc. Sci. (Agriculture), Professor of the Department of Vegetable Growing

Sergey N. Derevschukov – Cand. Sci. (Agriculture), Branch Manager

Lidiya V. Sycheva – deputy head of scientific work of the branch

Литература

1. Коновалов Ю.Б., Пыльнев В.В. и др. Общая селекция растений: учебник. М.: Изд-во РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. 2011. 395 с.
2. Liu B., Ou C., Chen S. et al. Differentially Expressed Genes between Carrot Petaloid Cytoplasmic Male Sterile and Maintainer during Floral Development. *Sci Rep* 9. 17384 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53717-x>
3. Леунов В.И., Ховрин А.Н., Корнев А.В. и др. Производство, селекция и семеноводство моркови. *Картофель и овощи*. 2014;(3):34-36.
4. Чистова А.В. Применение метода молекулярно-генетического анализа для выявления растений моркови с цитоплазмой типа «петалоид». *Картофель и овощи*. 2018;(9):33-35. DOI: 10.25630/PAV.2018.9.18333
5. Bach I.C., Olesen A., Simon P.W. PCR-based markers to differentiate the mitochondrial genomes of petaloid and male fertile carrot (*Daucus carota* L.). *Euphytica*. 2002;(127):353-365.

References

1. Konovalov Yu., Pylnev V. General plant breeding. Moscow: Publishing House of the Russian State Autonomy and Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev; 2011. (In Russ.)
2. Liu B., Ou C., Chen S. et al. Differentially Expressed Genes between Carrot Petaloid Cytoplasmic Male Sterile and Maintainer during Floral Development. *Sci Rep*. 2019; 9:17384. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53717-x>
3. Leunov V., Khovrin A., Kornev A. et al. Production, selection and seed production of carrots. *Potatoes and vegetables*. 2014;(3):34-36. (In Russ.)
4. Chistova A. The use of the method of molecular genetic analysis to identify carrot plants with a cytoplasm of the petaloid type. *Potatoes and vegetables*. 2018;(9):33-35. DOI: 10.25630 / PAV.2018.9.18333 (In Russ.)
5. Bach I., Olesen A., Simon P. PCR-based markers to differentiate the mitochondrial genomes of petaloid and male fertile carrot (*Daucus carota* L.). *Euphytica*. 2002;(127):353-365.