

УДК 635.356:631.531.02:573.6

ОСОБЕННОСТИ ЗАВЯЗЫВАНИЯ СЕМЯН У ЛИНИЙ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ КАПУСТЫ БРОККОЛИ В РАЗНЫХ ПОКОЛЕНИЯХ

Заблоцкая Е.А.¹ – аспирант-исследователь лаборатории селекции и семеноводства капустных культур
Бондарева Л.Л.¹ – доктор с.-х. наук, заведующая лабораторией селекции и семеноводства капустных культур

Шмыкова Н.А.² – доктор с.-х. наук, начальник отдела ОФР, профессор по специальности биотехнология

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и семеноводства овощных культур» (ФГБНУ ВНИИССОК)

143080, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

E-mail: stevijaelena@yandex.ru, lyuda_bondareva@mail.ru

² ООО «Ифар»

634021, Россия, г. Томск, ул. Елизаровых, д. 79/4

E-mail: shmykovanat@mail.ru

На сегодняшний день увеличить интенсивность селекционного процесса и значительно сократить срок получения стабильных чистых линий позволяют биотехнологические методы. В частности, селекционеры все шире используют технологию получения удвоенных гаплоидных растений (DH-растений) с помощью культуры пыльников и микроспор. Преимуществами использования этой технологии являются значительное ускорение селекционного процесса в выведении гомозиготных линий с различными морфологическими признаками и высоким уровнем однородности. Современная селекция овощных культур, в основном, направлена на создание гетерозисных F₁ гибридов. Удвоенные гаплоидные линии используют как потенциальные родительские компоненты для создания F₁ гибридов. Тем не менее, данные исследований зарубежных авторов свидетельствуют о низкой завязываемости семян у DH-линий. Это указывает на необходимость изучения этого показателя для последующего воспроизведения линий и достижения эффективного внедрения гибридов в производство. В статье изложены результаты оценки семенного поколения DH-линий капусты брокколи, полученных из сорта Тонус и сортообразца №1. Растения различались как по морфологическим признакам, так и по способности воспринимать свою пыльцу и числу семян в стручке. Создано 9 линий удвоенных гаплоидов капусты брокколи раннего срока созревания. Выявлены различия по завязываемости семян как между линиями, так и в ряду поколений. Отмечено влияние генотипа растения на завязываемость семян. Установлена высокая завязываемость семян при гейтеногамном размножении у DH-линий, полученных из сорта Тонус. Рассмотрены биологические особенности цветения семенного поколения DH-линий в камере искусственного климата.

Ключевые слова: капуста брокколи, линии удвоенных гаплоидов, семенное поколение, завязываемость семян, самонесовместимость, DH-технологии.

Введение

Для получения новых конкурентоспособных отечественных сортов и гибридов овощных культур необходимо создание нового исходного материала. Получение растений из культур рода Brassica, таких как капуста белокочанная, брокколи, цветная и брюссельская с использованием метода культуры пыльников и микроспор широко применяется как источник генетического разнообразия, а также как альтернатива медленному процессу получения константных линий (Chauvin et al, 1993; Farnham, 1998; Wang et al, 1999; Kaminski et al, 1999, 2005).

На сегодняшний день приоритетное направление в селекции – создание гетерозисных гибридов F₁. Непрерывность производства F₁ гибридных семян обеспечивается размножением родительских линий. В связи с этим получение семян DH-линий (линий удвоенных гаплоидов) – одна из важных задач.

Однако ряд исследователей отмечают очень низкую завязываемость семян DH-линий по сравнению с линиями, полученными классическим методом селекции (Chauvin et al, 1993; Farnham, 1998; Kaminski et al, 2004, 2005), что может являться проблемой при широком воспроизводстве линий. Одним из первых заметил такую особенность Chauvin (1993), который

при проведении своих исследований на капусте брокколи отметил низкое число семян в одном стручке при гейтеногамном опылении.

Результаты Farnham (1998) не подтверждают это заключение. В своих исследованиях на растениях капусты брокколи он установил, что среднее число семян варьировало в пределах от 2,4 до 5,8 семян/стручок при традиционном инбридинге в зависимости от гибрида и от 1,8-3,5 семян/стручок – у ДН-линий. У выделенных по комплексу хозяйственно полезных признаков ДН-линий число семян колебалось от 2,0 до 4,4 семян на стручок.

Kaminski и др. (2004, 2005) у ДН-линий капусты брюссельской отметили, что число семян в стручке варьировало от 0,41 до 6,9 шт. в зависимости от генотипа при гейтеногамном опылении и 15 семян на стручок – у исходной формы, самосовместимые ДН-линии в цветах завязывали от 0,1 до 4,5 семян/стручок. При проведении исследований на растениях капусты белокочанной этот показатель составлял 0,1-6,15 шт. при опылении в бутонах и 0,0-3,0 семян/стручок – при опылении в цветах.

Целью нашего изучения была оценка степени самонесовместимости капусты брокколи и способности к генеративному размножению ДН-линий, полученных методом культуры микроспор, в последующих поколениях.

Материалы и методика исследований

В 2013 году из лаборатории биотехнологии ВНИИССОК были получены 75 растений 9 морфотипов (R0 растений-регенерантов) капусты брокколи, полученных из сорта Тонус селекции ВНИИССОК и 50 морфотипов из сортообразца № 1 селекции лаборатории селекции и семеноводства капустных культур ВНИИССОК. Для проведения оценки степени самонесовместимости растений и гейтеногамного опыления в бутонах в зимне-весенний период растения капусты брокколи в вегетационных сосудах были установлены в камеру искусственного климата лаборатории селекции и семеноводства капустных культур с режимом адаптации 15...18°C в течение 8-19 суток и последующим повышением температуры до 22°C, с оптимальным режимом освещенности и относительной влажности воздуха. Способность к самонесовместимости определяли подсчетом завязавшихся семян в стручках после искусственного опыления цветов растения.

В 2014 году после проведенного контроля самонесовместимости и размножения гейтеногамно в камере искусственного климата было высажены 30 ДН-линий капусты брокколи в пленочную необогреваемую теплицу для оценки по хозяйственно ценным признакам. В качестве контроля использовали исходные формы, из которых были получены ДН-линии.

После оценки в теплице представляющие интерес по комплексу признаков выделенные ДН-линии были высажены вновь в камеру искусственного климата лаборатории селекции и семеноводства капустных культур для проведения контроля

самонесовместимости, их гейтеногамного размножения и получения гибридных комбинаций.

Аналогичная работа была проведена и в 2015 году.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Microsoft Excel 2007.

Результаты исследований

В первый год проведения исследований было установлено, что число семян у ДН-линий, полученных из сорта Тонус, при опылении в цветах варьировало от 0 до 12,4 шт./стручок, а у ДН-линий из сортообразца № 1 – от 0 до 11,1. В результате анализа на наличие самонесовместимых растений было установлено, что 10 растений оказались самонесовместимыми, в т.ч. 2 растения получены из сорта Тонус, а 8 – из сортообразца №1. При опылении в бутонах среднее число семян у ДН-линий из сорта Тонус составляло 6,7 шт./стручок, а у ДН-линий из сортообразца №1 – 4,2. Среднее число семян при гейтеногамном опылении у всех ДН-линий было 4,91 шт./стручок. Самонесовместимые ДН-линии завязывали семена от 0,2 до 9 шт./стручок. Наибольшее число семян при опылении в бутонах отмечалось у ДН-линии, полученной из сорта Тонус (13 шт./стручок).

В 2014 году следующее семенное поколение ДН-линий вновь прошло проверку на самонесовместимость. Число семян у ДН-линий, полученных из сорта Тонус, при опылении в цветах варьировало от 0 до 18,9 шт./стручок, а у ДН-линий из сортообразца №1 – 0-13,5 шт. Анализ выделенных ДН-линий на наличие самонесовместимых растений показал, что боль-



Рис. 1. ДН-линия 2 из сорта Тонус



Рис. 2. ДН-линия 6 из сорта Тонус.



Рис. 4. ДН-линия 5 из сорта Тонус.



Рис. 3. ДН-линия 44 из сортаобразца №1.

шинство (73,3%) были самосовместимы, они образовывали семена, как в бутонах, так и в цветах, а 26,7% линий оказались самонесовместимыми. При опылении в бутонах среднее число семян на стручок у ДН-линий, полученных из сорта Тонус составило 7,9 шт., у сортаобразца №1 – 4,6 шт. Средняя завязываемость семян в бутонах всех образцов составила 5,7 шт./стручок. У самонесовместимых линий в бутонах завязывалось 0,6-5,7 шт./стручок. Максимальное число семян при гейтеногамном опылении было отмечено у ДН-линии из сорта Тонус и составило 24,2 шт./стручок.

В 2015 году среднее число семян у следующего семенного поколения при гейтеногамном опылении самосовместимых выделенных ДН-линий составило 6,2 шт./стручок и 4,5 шт./стручок – у самонесовместимых. Средняя завязываемость семян для всех образцов была 5,4 шт./стручок. У линии из сорта Тонус, полученной обычным инбридингом, среднее число семян на стручок при опылении бутонов составило (I₁) 5,0 шт. Максимальное число семян отмечено у самосовместимой ДН-линии из сорта Тонус (10 шт./стручок). Этот показатель у самонесовместимой ДН-линии достигал до 6,9 шт./стручок.

Для включения в селекционный процесс важно оценить синхронность цветения линий, начало цветения, продолжительность и массовое цветение.

В период проведения гибридизации в камере искусственного климата было установлено, что в 2014 году начало заце-

тания ДН-линий приходилось на первую декаду ноября (33,3%), а массовое (66,7%) – во второй декаде ноября.

В 2015 году 12,5% ДН-линий зацветали раньше – в третьей декаде октября, массовое зацветание линий (81%) приходилось на первую декаду ноября, остальные ДН-линий зацветали во второй декаде ноября. Установлено, что лучшая завязываемость семян в бутонах и проведение контроля самонесовместимости были с 1 декады ноября по 1 декаду декабря у ДН-линий, полученных из сорта Тонус, у ДН-линий, полученных из сортообразца №1 – в период со второй декады ноября по первую декаду декабря. Продолжительность созревания семян в стручках варьирует от 40 до 80 суток в зависимости от ДН-линии.

В результате анализа двухлетних данных было выделено 9 ДН-линий капусты брокколи, различающихся как по способности воспринимать свою пыльцу, так и по морфологическим признакам (рис. 1,2,3,4). Эти линии представляют интерес для включения в различные селекционные программы.

Заключение

В результате проведенных исследований установили, что ДН-линии капусты брокколи различаются по способности воспринимать свою пыльцу. В зависимости от генотипа в популяции растений-регенерантов находится разное соотношение самосовместимых и самонесовместимых растений. Для создания гибридов на основе самонесовместимости практическую ценность представляют самонесовместимые растения, которые проявляют высокую способность к образованию семян при опылении бутончиков.

ДН-линии капусты брокколи также характеризуются различной завязываемостью семян как между собой, так и в ряду поколений. Различия могут быть связаны с генетическими особенностями растений-регенерантов, а также с влиянием условий выращивания в период вегетации.

Наиболее высокая завязываемость семян в бутончиках отмечена у ДН-линий, полученных из сорта Тонус. Такая же тенденция наблюдается и у ДН-линий, которые в цветах принимают свою пыльцу.

FEATURES OF SEED FORMATION IN DOUBLE HAPLOID LINES OF BROCCOLI IN DIFFERENT GENERATIONS

Zablotskaya E.A., Bondareva L.L., Shmykova N.A.

Federal State Budgetary Scientific Research Institution 'All-Russian Scientific Research Institute of vegetable breeding and seed production'

143080, Russia, Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya st., 14

E-mail: stevijaelena@yandex.ru, lyuda_bondareva@mail.ru

Summary

The biotechnological methods enable to produce the 'pure' lines for the short period of time that intensify the breeding program. Particularly, the anther culture is widely used to obtain double haploid lines (DH lines) in plant breeding. The technology advantage is to fast up essentially the selection of homozygous lines with different morphological traits and high level of uniformity. Contemporary breeding programs are directed at F1 hybrid development; therefore DH lines are in need to serve as the parental form for heterotic hybrid production. Nevertheless, previous data has shown that DH plants have been noticed to produce few seeds on them. To introduce the lines into breeding program for hybrid production and to multiply them, the seed formation of DH lines is worth being studied. The result of assessment of seed generation of DH lines of Broccoli that have been produced from 'Tonus' and convariety 'N1' is presented in the article There is much difference in morphological traits and both ability to recognize their own pollen and quantity of seeds in the pod among plants produced. Nine DH lines of early maturity were obtained. The differences in seed formation among these lines and between generations were revealed. It was shown the influence of genotype on seed formation in DH lines. It was also noticed the much seed formation in case of geitonogamic pollination in DH lines obtained from cultivar 'Tonus'. The biological features of flowering in DH lines under conditions of climatic chambers have been studied.

Key words: Broccoli, lines of doubled haploids, seed generation, seed formation, self-incompatibility, DH technologies

Литература

1. Пивоваров В. Ф., Шмыкова Н. А., Бондарева Л. Л., Заблочкая Е. А. полиморфизм удвоенных гаплоидных линий капусты брокколи, полученных в культуре микроспор *in vitro* // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2015. – №5. – С.33-35.
2. Chauvin J.E., Yang Q., B. Le Jeune, Herve Y. Obtention d'embryons par culture d'antheres chez le chou-fleur et le brocoli et evaluation des potentialites du materiel obtenu pour la creation varietale // Agronomie. – 1993. – 13. – P.579-590.
3. Farnham M.W. (1998): Doubled-haploid broccoli production using anther culture: effect of anther source and seed set characteristics of derived lines. Journal of American Society for Horticulture Science, 123: 73–77.
4. Kamiński P., Dyki B., Krzyżanowska D., Gorecka K. Diversity of diploid androgenic Brussels sprout plants of R0 and R1 generations // Journal of Applied Genetics 46(1). 2005. pp. 25-33.
5. Kaminski P, 2010. Gametoclonal and somaclonal variation among head cabbage androgenic lines of R1 and R2 generations obtained from Jaguar F₁ hybrid. Journal of Agricultural Science, 2 (2): 119-128.
6. Kamiński P., Gyrecka K., Krzyżanowska D. 1999. Diversity of androgenic plants of head cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) derived from the polish cultivar Kamienna Głowa using anther culture. Veget. Crops Res. Bull. 50: 13-20.
7. Kamiński P., Gyrecka K., Krzyżanowska D., Dyki B. 2004. Diversity of Brussels sprouts androgenic R0 generation obtained by anther culture. Veget. Crops Res. Bull. 60: 33-43.
8. Wang M., Farnham M. W., Nannes J. S. P. 1999. Ploidy of broccoli regenerated from microspore versus anther culture. Plant Breeding 118: 249-252.