

СОЗДАНИЕ СЕЛЕКЦИОННО ЦЕННЫХ БИОТИПОВ СВЁКЛЫ СТОЛОВОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ КУЛЬТУРЫ ШТЕКЛИНГОВ



DEVELOPMENT OF BREEDING VALUABLE BIOTYPES IN RED BEET WITH THE USE OF STECKLING CULTURE

Федорова М.И. – доктор с.-х. наук, профессор, гл. н.с.
Ветрова С.А. – кандидат с.-х. наук, с.н.с.
Козарь Е.Г. – кандидат с.-х. наук, ведущий н.с.
Заячковский В.А. – кандидат с.-х. наук, с.н.с.

**Fedorova M.I.,
Vetrova S.A.,
Kozar E.G.,
Zayachkovskiy V.A.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур»
143072, Россия, Московская обл.,
Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14
E-mail: kozar_eg@mail.ru

Federal State Budgetary Research Institution
'All-Russian Research Institute of Vegetable Breeding and Seed
Production'
Selectionnaya St. 14, Odintsovo region, Moscow oblast, p. VNISSOK,
143080, Russia
E-mail: kozar_eg@mail.ru

Проблемой при создании гетерозисных гибридов свеклы столовой как двулетней овощной культуры, является длительность получения гомозиготных *ms*- и *mf*-линий. Для ускорения создания линейного материала перспективно использование культуры штеклингов и защищенного грунта. Однако при использовании данного способа важен характер взаимосвязи между проявлением признака ЦМС семенных растений и селекционно значимыми признаками штеклингов, что и явилось целью данных исследований. Исследования проводили в 2012-2014 годах. Материал для исследований – инбредные потомства (*I*₂-*I*₅) свёклы столовой, полученные через культуру штеклингов, с использованием малообъемной технологии в защищенном грунте. Потомства получены на основе сортопопуляции Нежность и гибридных популяций иностранного происхождения. В результате исследований установлено, что одним из критериев косвенного отбора *ms*-форм в инбредных потомствах может являться скороспелость штеклингов, которая определяет их массу к моменту уборки. Средняя масса штеклингов стерильных растений в потомствах разных поколений инбридинга больше, чем у фертильных, не зависимо от срока уборки. Поэтому, вероятность отбора ценных *ms*-форм выше в группе скороспелых растений с большей массой штеклинга. Для создания перспективных *mf*-линий с высокой закрепляющей способностью, наоборот, целесообразно вести отбор штеклингов в более мелкой фракции среди среднеспелых и позднеспелых инбредных потомств.

Ключевые слова: свекла столовая, селекция, штеклинги, инбредные потомства, гомозиготные *ms*- и *mf*-линии.

The long period of time needed for production of homozygous *ms*- and *mf*-lines in biennial crop is a problem in development of heterotic hybrids in red beet. The use of steckling culture and protected cultivation technology are the suitable methods to speed up the development of breeding lines. However, the relationship between exhibition of CMS trait in seed plants and horticulturally valuable traits of steckling is very important aim of the study to be considered. The study was performed in 2012-2014. The red beet inbreeding lines (*I*₂-*I*₅), obtained through steckling culture in low-volume technology under protected cultivation condition were used as a plant material for the study. The generations that were obtained were from cultivar population 'Nezhnost' and a hybrid population of foreign origin. As a result, it was shown that one of criteria of indirect selection of *ms*-form in inbreeding generation may be the fast-maturity of stecklings that determined their yield weight at harvesting. The average weight of steckling belonging to sterile plants in progenies of different inbreeding generations, not depending on the time of harvesting was higher than in fertile plants. Therefore, probability to select the valuable *ms*-forms among groups of fast-maturing plants with greater weight of steckling was higher. The selection of stecklings from smaller size groups of middle maturing and late maturing inbreeding progenies is required to develop valuable *mf*-lines with high ability for fertility maintaining.

Keywords: red beet, breeding, steckling, inbreeding progenies, homozygous *ms*- and *mf*-lines.

Введение

В настоящее время в Государственный реестр селекционных достижений включены 117 сортов и 24 гибрида свёклы столовой, из них 96 сортов и только четыре гибрида российской селекции [1]. В современной селекции предпочтение отдаётся гетерозисным гибридам свёклы столовой, созданным на основе цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Наличие стерильных линий исключает кастрацию цветков при гибридизации и позволяет получать наибольший выход гибридных семян [2, 3, 4]. На основе коллекционного материала различного происхождения и селекционных образцов лаборатории селекции и семеноводства столовых корнеплодов ВНИИССОК получен инбредный материал с различным проявлением цитоплазматической мужской стерильности [5, 6, 7, 8], разработаны критерии оценки степени ЦМС семенных растений свёклы столовой по фенотипу с учётом микрогаметофита [9].

Динамика современного рынка требует ускорения селекционного процесса и постоянного привлечения нового линейного материала для производства гибридов с комплексом хозяйственно ценных признаков. Проблемой при создании гетерозисных гибридов свёклы столовой как двулетней овощной культуры, является длительность получения гомозиготных *ms*- и *mf*-линий. Для ускорения создания линейного материала перспективно использование культуры штеклингов и защищенного грунта. Выращивание штеклингов в контролируемых условиях исключает приём прореживания всходов, что обеспечивает максимальный выход разнообразного маточного материала и получение инбредного потомства свёклы столовой при однолетнем цикле развития [10, 11, 12]. Однако, при использовании данного способа для получения исходных линий, важен характер взаимосвязи между проявлением признака ЦМС семенных растений и селекционно значимых признаков корнеплодов (штеклингов), что и явилось целью данных исследований.

Материалы и методы

Исследования проводили в 2012-2014 годах. Материал для исследований – инбредные потомства (I_{2-5}) свёклы столовой, полученные через культуру штеклингов, с использованием малообъемной технологии в защищенном грунте. Потомства получены на основе сортопопуляции Нежность и гибридных популяций иностранного происхождения.

В первом опыте штеклинги I_{2-3} выращивали в голландской остекленной теплице с июня по август в пластиковых сосудах объемом 150 мл. В каждом образце штеклинги убирали на яровизацию отдельными партиями по мере достижения диаметра головки корнеплода более 15 мм. Разница между сроками уборки составляла около 30 суток. В зависимости от срока уборки с преобладающим числом полученных штеклингов (>50% от общего числа в образце) изученные потомства характеризовали по признаку «скороспелость», выделяя следующие группы спелости: при I сроке – раннеспелые; при II сроке – среднеспелые; при III сроке уборки – позднеспелые.

Во втором опыте штеклинги I_{4-5} выращивали в условиях блочной пленочной теплицы в летнем обороте и уборку проводили единовременно в конце сентября при достижении диаметра головки более 15 мм у 80% растений. Биометрические параметры и массу штеклингов в обоих опытах определяли сразу после уборки.

Штеклинги каждого срока уборки яровизировали в течение двух месяцев при температуре 2-5°C и высаживали в пластиковые сосуды объемом 1 л (первый опыт) или в грунт (второй опыт). Семенные растения выращивали в голландской обогреваемой теплице при продолжительности светового периода 16 час (досветка лампами), и по мере зацветания изучали характер проявления признака ЦМС по маркерной окраске *ms*-пыльцевиков визуально *in vivo* с параллельным контролем стерильности их пыльцы в условиях *in vitro* методом окрашивания дифкрасителем [13].

Оценку по признаку ЦМС проводили индивидуально по растениям в фазу массового цветения. Частоту встречаемости (долю) ЦМС-растений ($D_{ms}\%$) в инбредных потомствах выражали в процентах, от числа высаженных при каждом сроке уборки. Степень стерильности *ms*-растений ($C_{ms}\%$) определяли как процент стерильных цветков от общего числа цветков на растении, выделяя среди них полностью стерильные (*ms*) и частично стерильные (*ч/ms*) формы. Математическую обработку результатов проводили методом дисперсионного анализа по Б.А. Доспехову [14] с помощью пакета Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

При создании стерильных линий свёклы столовой отбирают биотипы с высокой степенью проявления признака ЦМС, а при создании линий закрепителей стерильности и опылителей проводят отбор инбредных *mf*-

растений, склонных к самофертильности. Отбором нужных биотипов на стадии штеклинга можно не только ускорить, но и повысить результативность селекционного процесса на этапе предбридинга.

Установлено, что фенотипическое проявление признака ЦМС на семенных растениях свёклы столовой, полученных через культуру штеклингов I_{1-4} , существенно не отличается от такового на растениях, выращенных в двулетнем цикле, и представлено всем разнообразием маркерной окраски пыльников [8, 10]. В количественном отношении признака ЦМС, инбредные потомства I_1 сортовой популяции Нежность, по сравнению с по-томствами, полученными через двулетнюю культуру, характеризовались увеличением частоты встречаемости ЦМС-растений и степени их стерильности. При этом показано, что доля *ms*-растений в потомстве возрастает по мере увеличения средней массы штеклингов [15].

Известно, что масса штеклинга при единовременной уборке определяется рядом факторов, и в первую очередь, генетически детерминирована признаками инбредного растения: «крупноплодность» и «раннеспелость». Для анализа проявления данных признаков, штеклинги потомств I_{2-3} , убирали в три срока, ориентируясь на величину головки, которая имела высокую степень корреляции с линейными размерами штеклинга. В среднем коэффициент корреляции с диаметром составил $r=0,84$, а с высотой – $r=0,76$.

Однако, как показали полученные данные, по диаметру головки не всегда можно прогнозировать массу штеклинга, которая

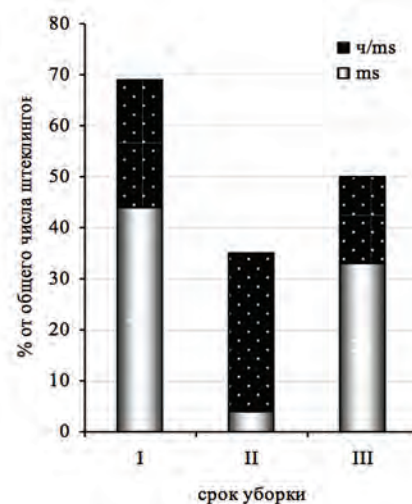


Рис. 1. Проявление признака ЦМС в инбредных потомствах I_3 свёклы столовой в зависимости от срока уборки штеклингов: *ms* – полностью стерильные растения; *ч/ms* – частично-стерильные растения

Таблица 1. Характеристика инбредных потомств 13 свёклы столовой по скороспелости и степени проявления признака ЦМС при разных сроках уборки штеклингов

№ инбредного потомства	Группа спелости	Срок уборки	Доля от общего числа штеклингов в образце, %	Распределение семенных растений по степени стерильности		
				стерильные	частично-стерильные	фертильные
274-1-2-3	раннеспелый	I	57	88	13	0
		II	21	33	67	0
		III	21	100	0	0
274-2-3-15	среднеспелый	I	0	-	-	-
		II	100	0	33	67
		III	0	-	-	-
274-5-5-2	среднеспелый	I	20	0	100	0
		II	60	0	0	100
		III	20	0	0	100
274-5-6-1	позднеспелый	I	0	-	-	-
		II	0	-	-	-
		III	100	0	0	100

является определяющим признаком скороспелости форм. По всей совокупности полученных штеклингов коэффициент корреляции между диаметром головки и массой штеклинга составил $r=0,74$, а в пределах индивидуальных потомств изменялся от 0,69 до 0,83. В целом масса штеклинга имела высокую вариабельность и изменялась при всех сроках уборки в пределах от 9 г до 110 г. Наибольшая средняя масса отмечена в первом сроке – 40 г, при этом половина полученных штеклингов имели массу более 50 г. Во втором и третьем сроках уборки она составляла 21 и 25 г соответственно, но большинство штеклингов (около 90%) относились к более мелким фракциям (до 50 г).

Анализ перспективных инбредных потомств сортопопуляции Нежность – источников ЦМС, потенциальных закрепителей стерильности и потомств, представляющих интерес как опылители с учетом комплекса хозяйственно ценных признаков корнеплодов, показал, что наибольшее число семенных растений с признаком ЦМС отмечено в группе штеклингов I срока уборки (около 70% от числа семенных растений в этой группе). При этом большинство выделенных биотипов характеризовались 100%-ой мужской стерильностью, доля которых составила 44% от общего числа (64% от числа ЦМС-растений). В группе штеклингов II срока уборки, преобладали фертильные семенные растения (более 65%), а в группе ЦМС-растений – ч/ms-формы (рис. 1).

В группе семенных растений III срока Dms составила 50%, с преобладанием ms-форм

(67% от числа ЦМС-растений). Однако, как показал анализ в рамках отдельных инбредных потомств, высокая доля ms-форм при этом сроке уборки обусловлена наличием штеклингов инбредного потомства №274-1-2-3 (источник ЦМС), которое в целом отнесено к группе раннеспелых потомств, поскольку доля штеклингов I срока уборки в структуре его популяции составила более 50% (табл. 1). Это потомство характеризовалось полным отсутствием mf-растений и самым высоким процентом полностью стерильных растений (78% от общего числа). В пределах среднеспелых инбредных потомств №274-2-3-15 и № 274-5-5-2, ms-растения присутствовали в группах штеклингов I и II сроков уборки. У позднеспелых инбредных потомств, как видно на примере №274-5-6-1, все полученные семенные растения были фертильными (табл. 1).

В связи с высокой вариабельностью массы штеклингов ($C_v > 50\%$) во всех сроках уборки, проводили анализ взаимосвязи данного признака со степенью проявления мужской стерильности семенных растений. Тесной взаимосвязи не выявлено ($r=0,4$), но показано, что средняя масса штеклингов полностью стерильных и частично-стерильных растений почти одинакова (26 и 25 г соответственно), тогда как средняя масса штеклингов mf-растений существенно ниже и составляла 17 г. При этом важно отметить, что наибольший разброс по массе штеклингов отмечен в группе ms-форм – от 12 до 43 г, а фертильные биотипы характеризовались низкой вариабельностью данного признака –

от 13 до 25 г (рис. 2А). Аналогичная закономерность выявлена в группах штеклингов разных сроков уборки. Наибольшую среднюю массу штеклингов имели растения с признаком ЦМС, независимо от срока уборки (рис. 2 Б).

При этом, большинство штеклингов первого срока уборки, относящихся к средней и крупной фракции, в дальнейшем характеризовались как полностью стерильные биотипы. Во II и III сроках уборки штеклинги ms-растений относились к средней фракции. Штеклинги фертильных форм, напротив, в большинстве относились к мелкой фракции, кроме штеклингов второго срока уборки, где фертильные биотипы присутствовали и в средней фракции (рис.3).

Во втором опыте, при одновременной уборке штеклингов (табл.2), анализ семенных растений показал сходные закономерности: во всех инбредных потомствах полностью стерильные биотипы характеризовались в среднем большей массой (от 33 до 73 г), по сравнению с фертильными (от 9 до 30 г). То есть, не зависимо от срока уборки и условий выращивания, вероятность отбора ценных ms-форм выше в группе скороспелых растений с большей массой штеклинга. Для создания перспективных mf-линий с высокой закрепляющей способностью, наоборот, целесообразно вести отбор штеклингов более мелкой фракции среди среднеспелых и позднеспелых инбредных потомств.

Диаметр головки в данном случае изменялся в более широких пределах, чем при разных сроках уборки (от 7 до 47 мм).

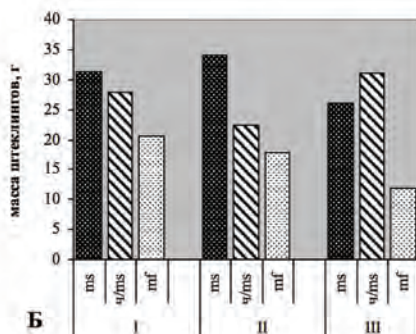
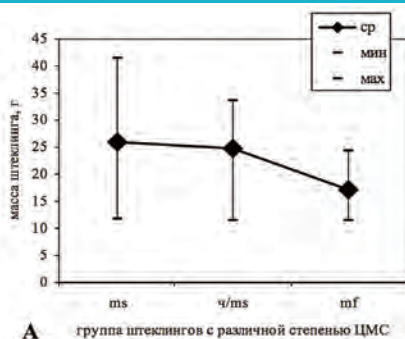


Рис. 2 Средняя масса штеклингов, различных по стерильности семенных растений: А – вся совокупность; Б – в зависимости от сроков уборки

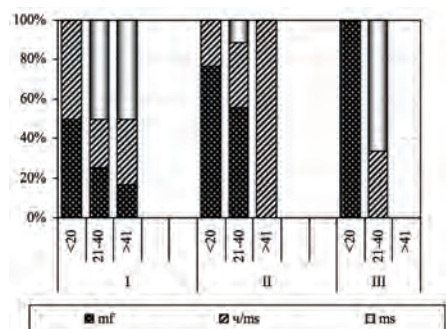


Рис.3. Распределение штеклингов с различным проявлением ЦМС по фракциям в разных сроках уборки

<20 г – мелкая фракция
21-40 – средняя фракция
>41 г – крупная фракция

Большим размером головки (в среднем 28 мм) характеризовались штеклинги потомства 274-1-2-3, которое является источником ценных ms-форм. Наименьшие показатели по данному признаку (в среднем 17 мм) имели штеклинги инбредного потомства 274-5-5-2, в котором были выделены перспективные mf-формы с высокой закрепляющей способностью.

Заключение

Использование культуры штеклингов при создании исходного материала для селекции на гетерозис свёклы столовой дает возможность получать растения с различной степенью мужской стерильности за один год. Одним из критериев косвенного отбора ms-форм в инбредных потомствах может являться скороспелость растений (штеклингов), которая определяет их большую массу к моменту уборки. Для поиска перспективных mf-форм целесообразно проводить отбор среди штеклингов средней и мелкой фракции. Срок уборки штеклингов определяется размером головки. Для инбредных потомств сортопопуляций с цилиндрической формой корнеплода – это диаметр головки не менее 15мм у 80% растений. В результате использования данного подхода, получен перспективный линейный материал свеклы столовой для селекции на гетерозис на основе ЦМС.

Таблица 2. Масса штеклингов в группах семенных растений 14-5 с различной степенью проявления признака ЦМС (при единовременной уборке штеклингов)

Селекционный номер	Инбредное поколение	Масса штеклинга, г					
		ms – растения		1/2ms – растения		mf – растения	
		$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	min-max
274-1-2-3	14	33	23-53	14	12-31	-	-
	15	50	50-110	47	10-100	-	-
274-2-3-15	14	-	-	38	25-50	19	11-27
	15	73	30-150	65	15-120	30	20-40
274-5-6-1	14	-	-	-	-	12	10-14
	15	37	10-80	25	-	25	-
274-5-5-2	14	-	-	41	-	9	8-10
	15	-	-	21	6-20	15	5-20

Литература

1. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Москва 2017. – С.207-209.
2. Балков И.Я. Селекция сахарной свеклы на гетерозис. – М., 1978. – 166 с.
3. Энциклопедия рода *Beta*: биология, генетика и селекция свеклы. /под ред. Малецкого С.И. с соавторами. – Новосибирск. - 2010. - С. 542-554.
4. Корниенко А.В., Моргунов А.В., Труш С.Г. Селекция свеклы на гетерозис (*Beta vulgaris* L.). – Воронеж, 2007. – 255 с.
5. Федорова М.И., Ветрова С.А., Козарь Е.Г. Особенности размножения инбредных потомств свеклы столовой при селекции на гетерозис // Сб. научн.тр. Молекулярная и прикладная генетика. - Минск, 2013. –Т.14 – С. 121-129.
6. Ветрова С.А. Оценка и отбор исходного материала для селекции на гетерозис свеклы столовой (*Beta vulgaris* L.). /Автореф. Канд.дисс. – М. -2011. -25 с.
7. Ветрова С.А., Фёдорова М.И. Использование инбридинга для получения стерильных форм свёклы столовой // Гавриш. – 2010. – №5. – С.36-38.

8. Заячковский В.А. Разработка методов гетерозисной селекции столовой свеклы. / Автореф. дисс.канд. с.-х. наук. – М., 2000. – 24с.
9. Федорова М.И., Ветрова С.А., Козарь Е.Г. Особенности фенотипического проявления признака ЦМС семенных растений свеклы столовой. // Овощи России. - 2011. -3(12). – С. 18-23.
10. Трофименко М.С. Выращивание маточной свеклы способом штеклингов // Сахарная свекла. – 1962. – №3.
11. Федорова А.И. Выращивание маточной свеклы способом штеклингов // Сахарная свекла. – 1962. – №1.
12. Фомичев А.М. Метод штеклингов в семеноводстве кормовой свеклы // Селекция и семеноводство. – 1978.
13. Данвелл Д.М. Культура гаплоидных клеток // Биотехнология растений: культура клеток / Пер. с англ. под ред. Р.Г. Бутенко. – М.: Агропромиздат, 1989. – С.33-51.
14. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1965. – 351 с.
15. Ветрова С.А., Фёдорова М.И., Козарь Е.Г. Инбредные потомства штеклингов – источник отбора мужски стерильных форм свеклы столовой// Мат-лы межд. научно-практ. конф. «Наука, инновации и международное сотрудничество молодых ученых-аграриев», 23-24 декабря 2016 г. – Орел. – 2016. – С.57-62.