

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЦМС G-ТИПА ПРИ СОЗДАНИИ
ГИБРИДНЫХ СОРТОВ ОЗИМОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)**

С.И. Гордей, кандидат биол. наук, **Э.П. Урбан**, доктор с.-х. наук,
член-корр. НАН Беларуси

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»
(Поступила 8.02.2018)

Рецензент: канд. с.-х. наук Я.Э. Пилюк

Аннотация. В статье изложены основные результаты изучения инцухт-линий ржи по способности закреплять мужскую стерильность и восстанавливать фертильность пыльцы в поколениях для ЦМС G-типа. Установлена частота встречаемости генов закрепления стерильности в популяциях ржи. Созданы мужски стерильные аналоги выделенных закрепителей стерильности (материнские компоненты гетерозисных гибридов ржи) и экспериментальные гибриды F_1 ржи на основе ЦМС G-типа, которые изучены по основным хозяйственно-ценным признакам и выделены лучшие формы.

Введение. В настоящее время большинство гибридных сортов ржи создано на генетической основе ЦМС Р-типа «Рапра». Использование данного типа ЦМС обусловлено высокой частотой генов закрепления стерильности (ms) в популяциях ржи. Согласно литературным данным, в различных популяциях частота ms-генов составляет 90-97% [1]. Высокая частота генов закрепления стерильности позволяет в относительно короткие сроки создать систему ЦМС (мужски стерильный аналог, закрепитель стерильности, восстановитель фертильности), поддерживать в поколениях и размножать материнский компонент, а также вести семеноводство гибридного сорта. Вместе с тем, существенным недостатком Р-ЦМС является низкая частота генов восстановления фертильности. В настоящее время у известных коммерческих гибридов F_1 , как правило, индекс восстановления фертильности относительно невысок, что приводит к пониженной озерненности колоса и восприимчивости к спорынье (*Claviceps purpurea*), особенно при дождливой погоде во время цветения [2]. Данная инфекция приводит к загрязнению ржаного зерна склероциями, содержащими токсичные алкалоиды. Для обеспечения достаточного количества пыльцы в семена гибридных сортов на основе Р-ЦМС, как выход из положения, приходится добавлять семена популяционного диплоидного сорта в соотношении: 90% семян гибрида F_1 и 10% семян популяционного сорта ржи, что приводит к некоторому снижению урожайности.

Наряду с селекционно-генетическими исследованиями, основанными на ЦМС Р-типа, проводятся работы с ЦМС G-типа «Guelzower». Он открыт Адольфом и Винклером в 1985 г. на сорте *Шлаглер*. Результаты исследований дают основание считать, что практически все линии ржи способны восстанавливать фертильность. Для ЦМС G-типа локализован ядерный ген восстановления фертильности ms1 (rf) на хромосоме 4RL, также описаны гены-модификаторы на хромосомах 3R (ms2), 6R (ms3) [3].

Основным барьером при создании гетерозисных гибридов ржи на генетической основе G-ЦМС является крайне низкая частота генов закрепления стерильности в популяциях. Несмотря на данное ограничение, в странах западной Европы возделываются гибридные сорта ржи на основе G-ЦМС: *Novus*, *Hellvus*, *Helltop*. По данным (неопубликованным) фирмы «Nordic Seed» данные гибриды в малой степени поражаются спорыньей, несколько более урожайны.

Использование G-ЦМС в селекции гибридных сортов актуально и для Республики Беларусь. Основной задачей здесь является выделение эффективных закрепителей стерильности. Решение данной задачи позволит без особых трудностей получать гибридные сорта без создания отцовских компонентов, поскольку в распоряжении имеется достаточное количество популяционных сортов, по которым ведется оригинальное семеноводство. В данной работе изложены основные результаты изучения генетической системы ЦМС G-типа с целью ее использования для создания гетерозисных гибридов F₁ озимой диплоидной ржи.

Материалы и методика исследований. Материалом для исследований послужили 3000 инцухт-линий озимой диплоидной ржи ($2n=14$) разного экологического происхождения, 5 мужски стерильных тестеров G-типа (Gülzower), сорта и гибриды диплоидной ржи.

Для выделения инцухт-линий – закрепителей стерильности и восстановителей фертильности проводили парные скрещивания (♀ МС-тестер × ♂ инцухт-линия) с использованием индивидуальных изоляторов. В поле уровень фертильности оценивался в баллах по шкале Гейгера (от 0 до 9) визуально по степени выброса пыльников из цветков во время цветения: 0-3 балла – стерильные, 4-5 – полуфертильные, 6-9 фертильные. Для лабораторной оценки фертильности пыльцы во время цветения фиксировали цветки ржи в 70%-ном этиловом спирте по 8-10 цветков с колоса, с 3-4 растений каждой линии, после чего изучали фертильность под микроскопом на ацетокарминовых препаратах по стандартной методике. В случае наличия на препаратах достаточного количества фертильной пыльцы, учитывалось до 500 пыльцевых зерен.

Помимо шкалы Гейгера предложена 4-х балльная оценка степени редукции пыльников: 4 балла – нормальные пыльники; 3 – слабо редуцированные (2/3 от длины нормальных); 2 – средние редуцированные (1/2 от длины нормальных) и балл 1 – сильно редуцированные (менее 1/3 длины нормально развитых пыльников).

Для предварительного изучения селекционной ценности форм ржи проводилась оценка *per-se* в питомниках микроиспытания: площадь делянки – 1 м² без повторностей, 200 зерен/м², каждая четвертая делянка – стандарт. Окончательное изучение гетерозисных гибридов ржи проводили в питомниках КСИ по общепринятой методике.

Закладка полевых опытов проводилась на дерново-подзолистой легкосуглинистой и рыхло-супесчаной почве с содержанием гумуса 2,02-2,53%, фосфора 153-257 мг/кг почвы, калия 242-289 мг/кг и рН почвы 5,86-6,2. Обеспеченность микроэлементами составила: Са (1282 мг), Mg (272 мг), В (0,51 мг), Си (1,6 мг), Zn (2,1 мг). Предшественник – озимый рапс на зерно. Обработка поч-

вы, посев и уход за посевами осуществлялись в соответствии с агротехникой, принятой для возделывания озимой ржи в Беларуси.

Результаты исследований и их обсуждение. В период 2005-2016 гг. изучено более 3000 инцухт-линий различного экологического происхождения по уровню закрепления и восстановления фертильности пыльцы при скрещиваниях с ЦМС-тестером. Из всех изученных инцухт-линий удалось выделить только 25, которые способны в полной степени закреплять стерильность пыльцы. Все остальные линии являлись восстановителями фертильности с индексом восстановления от 79 до 100%. Поскольку для данного типа ЦМС актуальность представляют закрепители стерильности, последующая работа по выделению селекционно-ценных форм велась только с ними.

Проведена оценка *per-se* [4] 25 линий-закрепителей в питомниках микроиспытаний по основным хозяйственно-полезным признакам (таблица 1). Стандартом являлась ранее выделенная инцухт-линия Л-345, характеризующаяся высоким уровнем самосовместимости, зимостойкости, продуктивности.

Таблица 1 – Результаты микроиспытания (*per-se*) линий – закрепителей стерильности для G-ЦМС озимой ржи (2013 г.)

Гибрид F ₁	Зимостой- кость, балл	Поражение мучни- стой росой, (1-9) 1- устойч., 9-воспр.	Поражение бу- рой ржавчиной, (1-9)	Урожай- ность, г/м ²	± к стан- дарту, %
Л-345 – ст.	8	2	1	672	
Г-1202	6	2	2	830	123,5
Г-1209	4	2	2	720	107,1
Г-1245	8	2	1	710	105,7
Г-1486	6	1	1	700	104,2
Г-1498	3	1	1	500	74,4
Г-1504	7	2	1	630	93,8
Г-1539	7	1	1	260	38,7
Г-1608	6	3	1	190	28,3
Г-1802	8	1	2	480	71,4
Г-1945	6	4	1	220	32,7
Г-1987	9	2	3	210	31,4
Г-2090	4	2	2	375	55,8
Г-2150	2	2	1	435	64,7
Г-2240	6	2	2	450	67,0
Г-2256	8	1	3	790	117,6
Г-2297	4	1	1	570	84,8
Г-2300	5	2	1	360	53,6
Г-2518	2	4	1	440	75,5
Г-2534	7	4	1	720	107,1
Г-2796	4	2	2	150	22,3
Г-2830	8	2	1	856	127,3
Г-3032	7	1	2	760	113,1
Г-3122	5	5	3	480	71,4
Г-3590	3	1	1	170	25,3
Г-4012	2	3	1	210	31,3

Как видно из таблицы, восемь инцухт-линий превосходили стандарт по урожайности. Однако остальные 17 форм также были включены в дальнейшие исследования по созданию системы ЦМС и гетерозисных гибридов F_1 ржи, поскольку все изученные линии являются носителями генов закрепления стерильности, что само по себе актуально для данного типа ЦМС. Кроме того, оценка *per-se* всех выделенных в разные годы закрепителей стерильности проводилась только один год, что не может достоверно отражать селекционную ценность.

На основании полученных результатов можно заключить, что частота генов закрепления стерильности в популяциях озимой ржи находится на уровне 0,8-1,0%, что крайне низко, так как поиск эффективных закрепителей стерильности требует изучения чрезвычайно большого количества инцухт-линий.

Низкая частота генов закрепления стерильности для ЦМС G-типа также существенно усложняет процесс размножения материнских компонентов, т.к. попадание в питомник первичного размножения даже нескольких пыльцевых зерен чужеродной формы приведет через 1-2 года к сильному засорению мужски стерильного материнского компонента фертильными генотипами, что в свою очередь нарушит «чистоту» гибридного сорта и снизит урожайность. Ранее нами установлено, что пространственная изоляция при семеноводстве МС компонентов Р-типа должна быть не менее 800 м, G-типа – не менее 1500 м.

Вместе с тем, высокая частота генов восстановления фертильности пыльцы в популяциях обеспечивает высокий индекс восстановления при использовании популяционных сортов в качестве отцовских компонентов гибридов независимо от материнского генотипа, что существенно сокращает затраты на создание отцовских компонентов [5].

В ходе исследований установлено, что в отличие от ЦМС типа «Рампра», для МС-форм G-типа характерна сильная редукция пыльников независимо от генотипа (рисунок 1), что говорит о высокой закрепляющей способности любого закрепителя стерильности. Как показали результаты цитологического анализа, в таких пыльниках, как правило, пыльцевые зерна вообще не формируются, в некоторых случаях формируется небольшое количество стерильных пыльцевых зерен.

На основании результатов проведенных исследований и литературных данных [6] можно сделать вывод, что для ЦМС G-типа характерны менее значимые функциональные нарушения в митохондриальном геноме по сравнению с Р-типом, что способствует более легкому восстановлению фертильности пыльцы у гибридов F_1 . Более сложный контроль Р-ЦМС со стороны ядерных генов и более выраженные нарушения в митохондриальном геноме обуславливает относительно легкое закрепление стерильности в поколениях и затрудняет восстановление фертильности, что является причиной варьирования уровня редукции пыльников у МС-линий типа Р-ЦМС.

С использованием ЦМС G-типа нами получен ряд экспериментальных гибридов F_1 , большинство из которых в течение трех лет изучения были на уровне или превышали стандартный гибридный сорт ржи Лобел-103 по уро-

жайности. В таблице 2 представлены результаты изучения некоторых из созданных гетерозисных гибридов F_1 на основе G-ЦМС.



А Б
Рисунок 1 – Мужски стерильная форма озимой ржи с сильно редуцированными пыльниками (А), фертильный закрепитель стерильности (Б)

Таблица 2 – Уровень конкурсного гетерозиса гибридов F_1 озимой ржи в питомнике конкурсного испытания (среднее за 2014-2016 гг.)

Селекционный номер	Зимостойкость, балл	Индекс восстановления, %	Урожайность, ц/га	± к стандарту, ц/га
Лобел-103 – стандарт	8	66,7	69,4	
G-13/2	8	90,7	73,6	4,2
G-13/4	7	93,3	68,2	-1,2
G-13/7	8	92,7	75,5	6,1
G-13/8	9	96,3	80,3	10,9
G-13/15	7	92,7	69,0	-0,4
G-13/19	6	95,7	70,9	1,5
G-13/21	8	94,0	82,1	12,7
G-13/26	8	89,0	74,2	4,8
G-13/32	7	96,7	71,8	2,4
G-13/41	9	95,0	79,2	9,8

НСР₀₅

3,8

Результаты изучения 10 гибридов F_1 показали, что все экспериментальные гибриды F_1 характеризовались высоким индексом восстановления (89,0-96,7%), в связи с чем поражение спорыньей было незначительным. Пять образцов достоверно превысили стандарт по урожайности. Гибридный сорт *Лобел-103* создан с использованием Р-ЦМС [7], где, как правило, существуют проблемы с

восстановлением фертильности пыльцы [8]. В данном случае индекс восстановления составил 66,7%, что во многом повлияло на уровень урожайности этого сорта. Визуально не отмечен более высокий уровень поражения *Лобел-103* склероциями спорыньи по сравнению с изучаемыми гибридами, поскольку в питомнике КСИ в непосредственной близости было много делянок с достаточным количеством пыльцы.

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось выделить инцухт-линии, являющиеся эффективными закрепителями стерильности для G-ЦМС, а также получить гибриды F₁ с высоким индексом восстановления и потенциалом продуктивности.

Заключение

На основании настоящих и ранее проведенных исследований по изучению Р-ЦМС («Пампа») можно выделить основные отличительные особенности двух типов ЦМС: Р- и G-типов, которые представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Отличительные особенности ЦМС G- и Р-типов озимой ржи

G-тип	Р-тип
Низкая частота генов закрепления стерильности в белорусских популяциях ржи	Низкая частота генов восстановления фертильности в белорусских популяциях ржи
Высокий индекс восстановления фертильности пыльцы у гибридов F ₁ независимо от родительских компонентов (85-100%)	Варьирование индекса восстановления фертильности пыльцы у гибридов F ₁ в зависимости от материнского и отцовского компонентов (от 1,5% до 92%)
Сильная редукция пыльников у МС-форм	Варьирование степени редукции пыльников у МС-форм от сильно- до средне- и слабoredуцированных
Более высокий уровень гетерозиса достигается у линейно-популяционных гибридов F ₁	Более высокий уровень гетерозиса обеспечивают тройные гибриды F ₁ (МС-гибрид х сорт-синтетик)
Гибриды F ₁ более устойчивы к спорынье благодаря высокому индексу восстановления фертильности пыльцы	Гибриды F ₁ менее устойчивы к спорынье из-за пониженного индекса восстановления фертильности пыльцы
Более полная экспрессия генов ЦМС	Менее выраженная экспрессия генов ЦМС из-за более сложного генетического контроля признака ЦМС

Являясь относительно новым типом, G-ЦМС менее изучена с генетической точки зрения и в плане практического использования в селекции гибридных сортов ржи. Анализ литературных данных и результаты наших исследований указывают на перспективность создания гибридных сортов ржи на генетической основе ЦМС G-типа. Однако, для широкого практического использования данного типа ЦМС необходимо решение следующих основных задач:

- изучение особенностей экспрессии ядерных ms генов и митохондриального генома, а также их взаимодействие при закреплении стерильности и восстановлении фертильности;
- изучение характера нарушений митохондриальной ДНК при формировании мужской стерильности;
- разработка биотехнологических и генно-инженерных методов создания линий закрепителей стерильности;
- расширение генофонда линий закрепителей стерильности с применением стандартных методик;
- разработка эффективной схемы селекции и семеноводства гибридных сортов ржи с использованием G-ЦМС.

Литература

1. Geiger, H.H. Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.) / H.H. Geiger, F.W. Schnell // – Crop. Sci. – 1970. – Vol. 10. – P. 56-60.
2. Geiger, H.H. Hybrid rye and Heterosis / H.H. Geiger, T. Miedaner // Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. – Madison, Wisconsin, USA, 1999. – P. 439-450.
3. Melz, G. Genetics of a male-sterile rye of «G-type» with results of the first F₁ hybrids / G. Melz, G. Melz, F. Hartmann // In proc. Int. Symp. on rye breed. and gen. EUCARPIA. – Radzikow, 2001. – P. 43-50.
4. Madej, L. Ocena plodnosci mieszcancow zyta / L. Madej, R. Osinski, J. Jagodinski // Biuletyn Inst. Hodowli i Aklimat. Roslin. Radzikow, Poland. – 1995. – №195/196. – P. 283-290.
5. Гордей, С.И. Селекционно-генетические аспекты использования эффекта гетерозиса у озимой ржи (*Secale cereale* L.) / С.И. Гордей // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2002. – №1. – С. 103-108.
6. Даниленко, Н.Г. Миры геномов органелл / Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко. – Минск, 2003. – 780 с.
7. Урбан, Э.П. Озимая рожь в Беларуси (селекция, семеноводство, технология возделывания) // Э.П. Урбан. – Минск: Беларуская навука, 2009. – 269 с.
8. Geiger, H.H. Heterosis of factorial inter-pool-single cross among elite winter rye inbred lines / H.H. Geiger, P. Wilde, M. Erfurt, J. Pakas // Proceedings of the Eucarpia Rye Meeting, Juli 4-7, 2001. – Radzikow, 2001. – P. 19-22.

RESULTS OF G-TYPE CMS STUDY AT THE DEVELOPMENT OF WINTER RYE (*SECALE CEREALE* L.) HYBRID VARIETIES

S.I. Hardzei, E.P. Urban

Main results of self-pollinated rye lines study on the ability of male sterility maintaining and pollen fertility restoration in generations for the G-type CMS are presented in the article. The frequency of occurrence of non-restorer genes in rye populations is established. Male sterile analogs of the selected non-restorers (female components of heterozygous rye hybrids) and experimental F₁ rye hybrids based on the G-type CMS were developed. They were studied for the main economic traits and the best genotypes were identified.