

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ОВОЧІВНИЦТВА І БАШТАННИЦТВА

**МЕТОДИКА СТВОРЕННЯ БАТЬКІВСЬКИХ ФОРМ ДЛЯ ГІБРИДНОЇ
СЕЛЕКЦІЇ КАПУСТЯНИХ КУЛЬТУР (КАПУСТИ ТА РЕДИСКИ)
(методичні рекомендації)**



УДК 635.34; 631.527

Рекомендовано до видання вченою радою Інституту овочівництва і баштанництва (протокол № 9 від 16.12.2020 р.)

Методика створення батьківських форм для гібридної селекції капустияних культур (капуста, редиска) : методичні рекомендації / Авт. кол. : Н. О. Кирюхіна, О. М. Біленька, І. М. Підлубенко, О. П. Овчіннікова. Селекційне : ІОБ НААН. 2020. 16 с.

Авторський колектив: Н. О. Кирюхіна, кандидат с.-г. наук, О. М. Біленька, кандидат с.-г. наук, І. М. Підлубенко, кандидат с.-г. наук, О. П. Овчіннікова

Рецензенти: Сергієнко О. В. доктор с.-г. наук
Крутько Р.В. кандидат с.-г. наук, ст. н. с.

Викладено методику отримання самонесумісних ліній капусти та редиски призначена для створення гетерозисних гібридних популяції F₁. Гібридність таких популяцій становить 85–90 %, а ефект гетерозису 25–30 %. Наведено наступні її етапи: пошук самонесумісних рослин; розмноження самонесумісних рослин; отримання самонесумісних інбредних ліній; перевірка комбінаційної здатності; отримання гетерозисних гібридів. Розроблено селекційний процес отримання самонесумісних ліній капусти та редиски, який дозволяє отримати гетерозисні гібриди.

© Інститут овочівництва і баштанництва НААН, 2020
© Кирюхіна Н. О., Біленька О. М., Підлубенко І. М., Овчіннікова О. П., 2020

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЦВІТІННЯ	5
2. ЯВИЩЕ САМОНЕСУМІСНОСТІ	5
2.1. Генетика самонесумісності	6
2.2. Системи самонесумісності	7
2.3. Визначення генетичного контролю самонесумісності	9
2.4. Генетичне контролювання самонесумісності	10
2.5. Метод створення самонесумісних ліній	11
2.6. Вимоги до самонесумісних ліній	11
2.7. Оцінка комбінаційної здатності самонесумісних ліній	12
ВИСНОВКИ	14
БІБЛІОГРАФІЯ	15

ВСТУП

Важливою задачею є забезпечення населення свіжими високоякісними овочами різним асортиментом протягом року. Широка можливість для розширення асортименту і підвищення якості овочів, закладені у використанні існуючого різноманіття видів і сортів капусти та редиски. Цвітна та брюссельська капуста цінні вмістом білка та аскорбінової кислоти. Савойська капуста також містить багато вітаміну С, білку, мінеральних речовин. Цвітна і особливо кольрабі та пекінська капуста мають дуже скоростиглі сорти, які забезпечують ранньою продукцією в закритому та відкритому ґрунті.

Редиска – культура яка користується найбільшим попитом рано навесні і в зимовий період, коли спостерігається дефіцит багатьох видів овочевих культур. Цінність коренеплодів визначається високим вмістом у них вітамінів. Кількість вітаміну С в залежності від різновидності і сорту складає 8,3–55 мг/100г, тіаміну – 0,40–1,8 мг/1000г, рибофлавіну – 0,25–0,4 мг/1000г, нікотинова кислота – 1,0–5,3 мг/1000 г. Редиска також є цінним джерелом важливих мінеральних елементів: калію, кальцію, заліза, фосфору, магнію і сірки. Специфічний смак редиски обумовлено вмістом ефірної олії – сульфорафен.

Селекція гетерозисних гібридів капусти та редиски представляє собою створення самонесумісних інцухт-ліній, при перезапиленні, яких можна отримати достатньо велику кількість гібридного насіння без домішок батьківських. Вимоги при створенні нових перспективних гібридів наступні: скоростиглість, урожайність, поліпшення якості головок (коренеплодів) за хімічним складом, стійкістю до основних хвороб (фузаріозне в'янення, судинний бактеріоз) придатністю до переробки, щільністю головки (капуста), стійкістю до стеблуння й утворення пустот у коренеплодах редиски. При цьому гібриди F₁ необхідно створювати такими, щоб мати свіжу продукцію протягом року, користуючись різними типами відкритого і захищеного ґрунту.

1. БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЦВІТІННЯ

Суцвіття – волоть. На початку цвітіння рослин мають центральне стебло і декілька гілок першого порядку. До кінця цвітіння утворюються 8–19 гілок першого порядку, 10–84 – другого порядку, 9–82 третього порядку.

Цвітіння починається з головного стебла і поступово переходить до верхівки. Потім поступово зацвітають на осях першого порядку, починаючи з верхнього ярусу, після цього – на середньому і нижніх ярусах. Пізніше зацвітають гілки другого порядку. Цвітіння рослин починається рано вранці (5–8 год.). Найбільш інтенсивне пиління спостерігається від 10 до 14 години. Протягом дня цвітіння в межах однієї китиці відбувається більш розтягнуто, поряд квіти розкриваються і пилять раніше, інші розташовані поряд цвітуть пізніше. Під час розкривання квітів тичинки знаходяться на одному рівні з приймочкою. При відхиленні пелюсток починають розтріскуватися пиляків. У розкритому виді квітка зберігається залежно від погодних умов протягом 1–5 діб.

Квіти – протогінічні й приймочка сприймає пилок за 3–5 діб до розкривання квітки. Однак найбільш активне сприйняття пилку спостерігається в день розпускання квітки (настання повної зрілості).

Формування бутонів проходить при середній температурі повітря 18°C, більш висока температура повітря негативно впливає на їх утворення. Висока температура в період цвітіння і до нього викликає деформацію тичинок, маточки та інших органів квітів, призводить до опадання квітів.

2. ЯВИЩЕ САМОНЕСУМІСНОСТІ

Капуста та редиска це об'єкти, на яких широко і глибоко відпрацьовано ряд теоретичних питань щодо селекції на гетерозис, у першу чергу було пикористано явище самонесумісності.

2.1. Генетика самонесумісності

Створення і впровадження у виробництво гетерозисних гібридів F_1 капусти та редиски можливо лише при використанні явища самонесумісності. Явище самонесумісності у капусти та редиски визначається спорофітною системою, яка контролюється мультіалельним локусом *S*. При спорофітній системі контролює реакція самонесумісності проявляється на поверхні приймочці в момент контакту з пилком. При самозапиленні рослини реакція пилку визначається взаємодією *S*-алелей в диплоїдній материнській клітині. Унаслідок чого гаплоїдний пилкок, гетерозиготної по *S*-алелям рослини має однакову реакцію самонесумісності з приймочкою, яка визначається домінантним *S*-алелем або двома *S*-алелями при їх незалежній дії. Поняття генетики самонесумісності у капусти та редиски засновано на наступних положеннях:

- 1) несумісність контролюється одним мультіалельним локусом *S*;
- 2) реакція пилку визначається генотипом спорофітної тканини, у якій він утворився, і тому контролюється двома алелями *S*;
- 3) унаслідок цього весь пилкок рослини має однакову реакцію несумісності;
- 4) два алелі можуть діяти незалежно, або взаємодіяти між собою, так що один алель домінує; такі взаємовідносини можуть існувати в пилку, у приймочці або в обох структурах; рецесивний алель – неактивний;
- 5) ідентичність активних алелей у пилку й приймочці призводить до самонесумісності;
- 6) відношення домінантності незалежності алелей *S*-локусу в пилку й приймочці можуть відрізнитись.

Дослідженнями встановлено наявність в популяціях капусти та редиски чотирьох типів рослин по взаємодії *S*-алелей у пилку й приймочці:

- 1) один *S*-алель домінує над іншим у пилку й приймочці;
- 2) домінування в пилку, незалежна дія в приймочці;

- 3) незалежна дія в пилку, домінування в приймочці;
- 4) незалежна дія в пилку і приймочці.

На сьогоднішній час всі чотири типи взаємодії S-алелей виявлені в експериментах з капостою та редискою. У наших роботах з капостою перелічені типи рослин спостерігали в сортах Харківська зимова, Ярославна, Ліка, Білосніжка та інші. Серед редиски – Ксенія, Богиня, Рубін, Базис.

2.2. Системи самонесумісності

Несумісність у рослин капусти та редиски проявляється в нездібності пилку проростати на рильцях рослин з однаковим генотипом. Реакція несумісності проявляється в маточці, диплоїдна тканина якого контролюється генотипом материнської рослини (спорофіт). Існує два типи генетичних систем самонесумісності – гаметофітна та спорофітна. Гаметофітна контролюється одним геном S. Клітини диплоїдної маточки завжди має два алеля. У популяціях зустрічаються повна несумісність при самозапиленні; сумісність половини пилкових зерен і повна несумісність, при якій усі пилкові зерна однієї рослини можуть запилити інші рослини. Наступні покоління в схрещуванні гетерозиготне за генами самонесумісності (табл. 1, рис. 1).

Гаметофітна несумісність визначається генотипом пилкового зерна. Якщо в генотипі маточки є той самий алель, що і в генотипі пилкових зерен, то розвиток пилкової трубки припиняється.

При спорофітній самонесумісності реакція пилкових зерен контролюється, як правило, багатьма алелями одного гена, визначається генотипом тканини чоловічого спорофіта, у якому розвивається пилкок. Спорофітна несумісність представлена в природі двома типами гетероморфна (дистилія два види квітів) і гомофорфна.

Таблиця 1 – Рівні перехресної сумісності в популяціях при гаметофітній системі самозапилення

Тип схрещування	Генотип		Пилкові зерна		Генотип потомства
	♀	♂	функціональні	не функціональні	
Обидві рослини з одним і тим же генотипом (самозапилення)	$S^1 S^2$	$S^1 S^2$	-	всі	-
Рослини розрізняються по одному алелю: проростає половина пилку	$S^1 S^2$ $S^1 S^3$	$S^1 S^3$ $S^1 S^2$	S^2 S^2	S^1 S^1	$S^1 S^3$; $S^2 S^3$ $S^1 S^2$; $S^2 S^3$
Рослини розрізняються по обом алелям проростає пилкок	$S^1 S^2$ $S^0 S^4$	$S^0 S^4$ $S^1 S^2$	S^3 ; S^4 S^1 ; S^2		$S^1 S^3$; $S^1 S^1$ $S^2 S^3$; $S^2 S^4$ $S^1 S^3$; $S^2 S^3$ $S^1 S^4$; $S^2 S^4$

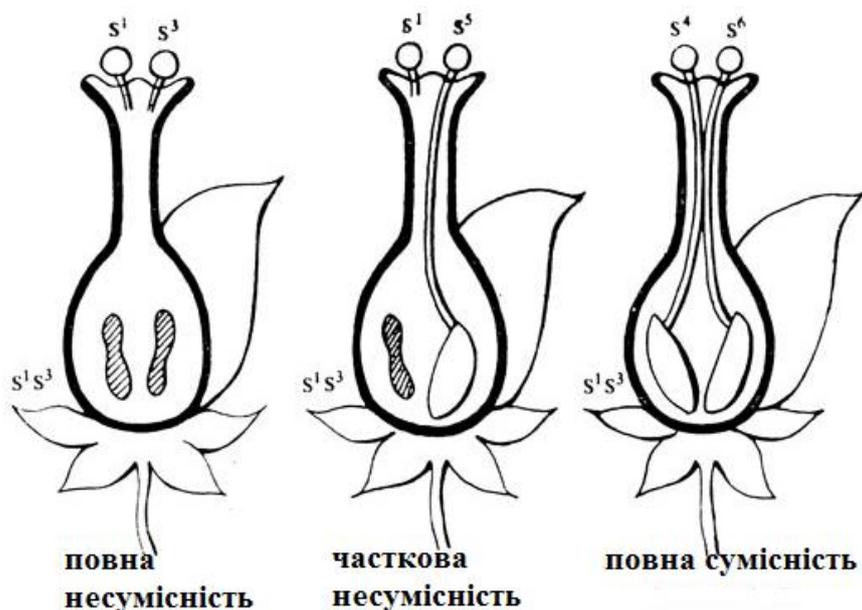


Рисунок 1 – Гаметофітна несумісність

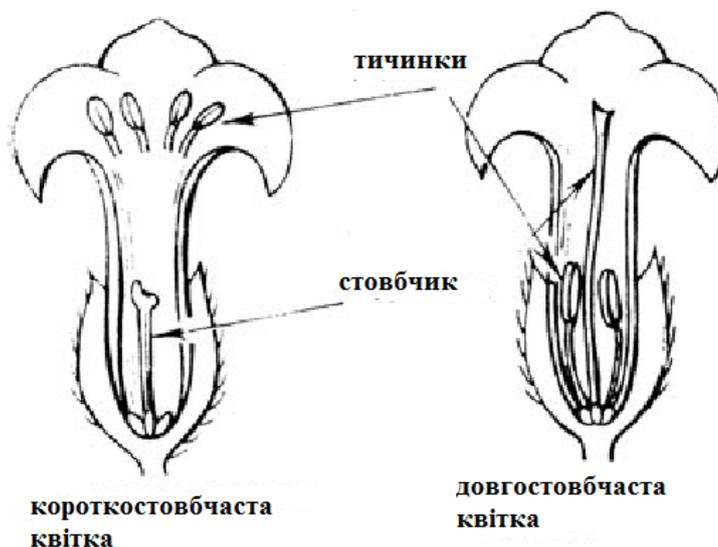


Рисунок 2 – Типи квіток при дистилії

2.3. Визначення генетичного контролю самонесумісності

Самонесумісність в популяціях перехреснозапильних рослин (капусти, редиски) може бути дуже високою, але не є абсолютною. Деякий рівень фертильності при сомозапиленні отримав назву «псевдосумісність», яку можливо збільшити з допомогою примусового запилення, дією різних факторів – температурою, освітлення та ін. Дякуючи «псевдосумісність» з'являється можливість виділенню гомозиготних генотипів за алелями самонесумісності.

Для цього клонують окремі рослини, потім проводять самозапилення в клонах і отримують насіння кожної родини першого інбредного покоління (I_1). Тип самонесумісності визначається по долі фертильних рослин, які виникають у поколіннях трьох типів схрещування.

1 – серед рослин у поколінні I_1 ; 2 – у зворотному схрещуванні материнських рослин із I_1 з вихідною батьківською рослиною (F_{B1}); 3 – у зворотному схрещуванні батьківської рослини із I_1 з вихідною материнською рослиною (F_{B2}).

При гаметофітному контролі самонесумісності в I_1 родини, отримані з одного клону з генотипом S^1S^2 за рахунок «псевдосумісності» можуть утворювати рослини різних генотипів з частотами: S^1S^1 , S^1S^2 , S^2S^2 . При їх внутрішньородинному схрещуванні фертильними будуть $3/8$ або $37,5\%$ покоління. У поколінні F_{B1} пилок з вихідною батьківською рослиною, які мають генотип S^1S^2 , не буде проростати лише на рильцях гетерозиготних рослин із III_1 , які складають у ньому половину покоління. Унаслідок цього в схрещуванні 50% рослин будуть фертильними.

У схрещуванні $\text{♀}P + \text{♂}I_1$ рослини не зав'яжуться насіння, так як пилок будь-якої рослини I_1 не проросте на рильці вихідної гетерозиготної материнської рослини (табл. 2).

Таблиця 2 – Доля фертильності рослин в трьох типах схрещуваннях

Тип сумісності	Доля фертильних рослин, %		
	Покоління від I ₁	1/4	♀I ₁ /♂P
Гаметофітна	37,5		50,0
Спорофітна, S ¹ = S ²	12,5		
Спорофітна, S ¹ > S ²	37,5	25,0	25,0

♀	1/4 S ¹ S ¹	1/2 S ¹ S ²	1/4 S ² S ²
♂	1/4 S ¹ S ¹	1/8 S ¹ S ²	1/16 S ¹ S ²
	1/2 S ¹ S ²		
	1/4 S ² S ²	1/8 S ¹ S ²	

При внутрішньородинному схрещуванні фертильними будуть 37,5% поколінь.

♀	1/4 S ¹ S ¹	1/2 S ¹ S ²	1/4 S ² S ²
♂	S ¹ S ²	1/4 S ¹ S ²	1/4 S ¹ S ²

Таке схрещування дає 50% фертильних рослин.

♀	1/4 S ¹ S ¹	1/2 S ¹ S ²	1/4 S ² S ²
♂	S ¹ S ²	1/4 S ¹ S ²	1/4 S ¹ S ²

У схрещуванні ♀P + ♂I₁ ні одна рослина не зав'яже насіння, оскільки пилок любой рослини I₁ не проросте на рильці вихідного материнської рослини. Гени самонесумісності не мають свого фенотипового прояву, але вони можуть впливати на характер розщеплення, оскільки частина гамет при несумісності не бере участі в заплідненні.

2.4. Генетичне контролювання самонесумісності

Автостерильність (самонесумісність) у популяціях перехреснозапильних рослин може бути дуже високим, але не є абсолютною. Деякий рівень фертильності при самозапиленні отримав назву «псевдосумісність», частоту якого можливо збільшити з допомогою примусового запилення, дією різних факторів – температури, освітлення та інших.

2.5. Метод створення самонесумісних ліній

Виділення гомозиготних по S – алелям рослин і ступінь прояву самонесумісності визначається за середньою кількістю насіння, яке зав'язалося в стручках при запиленні власним пилком 5–6 квіток на кожному з 2–3 ізольованих суцвіть, оскільки речовини, які контролюють реакцію самонесумісності, починають проявлятися за 24–36 годин до розкриття квітки, і найбільш активні – під час цвітіння. Розмноження самонесумісних рослин проводять шляхом запиленням бутонів пилком з квіток, які розкрилися під ізолятором. У наших роботах запилення бутонів ми проводили за 2–3 дні до розкриття квітки, тобто запилювали перші 6–8 бутонів.

Визначення типу взаємодії S-алелей у пилку й приймочці, гомо- або гетерозиготності за алелями несумісності кожної рослини інбредного покоління здійснюється шляхом схрещувань й аналізу взаємної сумісності.

У своїх дослідах ми проводили діалельне схрещування кожної рослини з усіма іншими. У результаті було виділено рослини 2, 3 і 4 типів, які гомозиготні за різними S-алелями.

2.6. Вимоги до самонесумісних ліній

Селекційний процес щодо виділення вихідних ліній капусти та редиски вирішує такі задачі:

- 1) досягнення гомозиготності за S-алелями;
- 2) забезпечити природній процес перезапилення двох самонесумісних ліній і виключити можливість перезапилення рослин у межах лінії;
- 3) створити лінії гомозиготні за генами, які визначають цінні господарські ознаки;

4) самонесумісні лінії повинні володіти високою комбінаційною здатністю.

Неможливість перезапилення в межах ліній забезпечується гомозиготністю за якимось одним S-алелем, що досягається інбридингом упродовж декількох поколінь. За допомогою, інбридингу який проводять протягом 6–7 генерацій, досягається висока гомозиготність ліній за кількісними генами, які визначають цінні господарські ознаки.

2.7. Оцінка комбінаційної здатності самонесумісних ліній

Комбінаційну здатність ліній визначають за даними оцінки гібридів, які отримують при схрещенні інцухт-ліній за неповною діалельною схемою. Оскільки кількість ліній й отриманих від них гібридів може бути дуже великою, то на перших етапах роботи для визначення загальної комбінаційної здатності застосовували метод топкросу. Після виділення на основі загальної комбінаційної здатності невеликої кількості перспективних ліній проводять оцінку специфічної комбінаційної здатності. При цьому всі лінії схрещують за діалельною схемою й аналізують якість отриманих гібридів. Після цього всі лінії групували за морфологічними й біологічними ознаками. Наступним етапом було отримання простих гібридів, які є основою для отримання чотирьох лінійних гібридів.

Розглянувши врожайності батьківських форм (табл. 3 і 4) встановлено, що у 2019 р. серед материнських форм найвищу оцінку ЗКЗ 11,26 та 1,65 – за врожайністю спостерігали у лінії Лебідка (редька лобо) та лінія Яна (капуста). Також позитивний рівень ЗКЗ виявлено у материнських форми Трояндова (2,69) та к-3437 (0,58 відповідно). Негативний рівень ЗКЗ відмічено у всіх інших материнських форм, а саме: Ravanello rosso (-0,71), Cavallerondo (2,75), Сударушка (3,36), Ксенія (-4,76) та Рубін (-7,45). Найвищою ЗКЗ серед запилювачів вирізняється лінія Трояндова (9,78). Досить високий показник за цією властивістю спостерігали також у

батьківських форм Сударушка (1,78) та Лебідка (1,23). В інших запилювачів відмічено негативний рівень ЗКЗ (-3,53...-0,84 і -4,22...-0,75 відповідно) (див. табл. 3).

Таблиця 3 – Загальна комбінаційна здатність батьківських форм гібридів F₁ редиски

Батьківські форми	2019 р.		2020 р.	
	♀ g _i	♂ g _i	♀ g _i	♂ g _i
Ксенія	-4,76	-2,92	8,32	-22,69
Рубін	-7,45	-0,93	-6,22	-17,03
к-3437	0,58	-0,84	4,27	-2,45
Cavallerondo	-2,75	-3,53	-0,81	-18,70
Ravanello rosso	-0,71	-0,91	-2,76	-22,79
Сударушка	-3,36	1,78	-2,23	10,83
Трояндова	2,69	9,78	3,38	7,03
Лебідка	11,26	1,23	4,13	-5,34

Таблиця 4 – Загальна комбінаційна здатність батьківських форм гібридів F₁ капуста

Батьківські форми	2019 р.		2020 р.	
	♀ g _i	♂ g _i	♀ g _i	♂ g _i
Ліка	-5,10	-3,59	10,80	-25,12
Білосніжка	-8,63	-1,12	-7,13	-19,35
Леся	0,55	-0,75	5,11	-2,38
Харківська супер	-3,33	-4,22	-2,56	-26,13
Українська осінь	-0,04	0,03	-2,25	-20,75
Ярославна	-3,95	1,65	-2,82	10,62
Яна	3,01	10,73	2,43	6,56

У результаті аналізу ЗКЗ встановлено, що серед материнських форм найкращою є лінія Ксенія 8,32. Високий рівень ЗКЗ показали також лінії Трояндова (3,38), Лебідка (4,13) і к-3437 (4,27). Негативний рівень комбінаційної здатності мали лінії Ravanello rosso (-0,81), Сударушка (-2,23), Cavallerondo (-2,76) і Рубін (-6,22). Серед запилювачів позитивну ЗКЗ відмічено у ліній Сударушка (10,83) та Трояндова (7,03). У ліній Ксенія, Cavallerondo,

Рубін, к-3437, Ravello rosso і Лебідка виявлено негативну ЗКЗ (-22,79; -26,13) (див. табл. 3).

Найвищий рівень ЗКЗ. спостерігали у материнської форми Яна (3,01), а серед батьківських форм – Яна, Ярославна (10,73 і 1,65). Також позитивну ЗКЗ серед материнських форм відмічено у Леся (0,55), серед батьківських – в Українська осінь (0,03), Ярославна (1,65), Яна (10,73). Усі інші досліджувані батьківські форми показали негативну ЗКЗ (див табл. 4).

ВИСНОВКИ

Викладена методика отримання самонесумісних ліній капусти та редиски призначена для створення гетерозисних гібридних популяції F₁. Гібридність таких популяцій становить 85–90 %, а ефект гетерозису 25–30 %.

Нами викладено наступні її етапи:

- пошук самонесумісних рослин;
- розмноження самонесумісних рослин;
- отримання самонесумісних інбредних ліній;
- перевірка комбінаційної здатності;
- отримання гетерозисних гібридів.

Розроблено селекційний процес отримання самонесумісних ліній капусти та редиски, який дозволяє отримати гетерозисні гібриди.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножение и селекция растений. Пер.с англ. Москва: Колос, 1982. 384 с.
2. Кулікова Н.М. Прояв самонесумісності у редиски в залежності від умов вирощування. *Овочівництво і баштанництво*. 2004. Вип. 49. С. 85–89.
3. Основные принципы получения гибридных семян на основе самонесовместимости. *Доклады ТСХА*. 1972. Вып. 186. С. 195–199.
4. Особливості проведення дослідів по насінництву овочевих і баштанних культур. / [Т.К. Горова, К.И.Яковенко, О.Я.Жук, В.Ю.Жук, В.А.Кравченко, М.М. Гаврилюк. *Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві*. За ред. Г.Л. Бондаренка, К.І. Яковенка]. Харків: Основа, 2001. С. 220–248.
5. Горова Т.К. та ін. Рід Редька, Редиска *Raphanus L.* Сучасні методи селекції овочевих і баштанних культур. Т.К. Гороя, М.О. Складяревский. Харків, 2001. С.213–241.
6. Гороя Т.К., Складяревский М.О.. Исходный материал для селекции корнеплодных овощных растений. *Селекция и семеноводство овощных растений в XXI в.: междунар. научно-практ. конф. (24–27 июля 2000 г.)* Москва, 2000. С. 185–186.
7. Takayama S., Shiba H., Iwano M., Asano K., Hara M., Che F.-S., Watanabe M., Isogai A. Isolation and characterization of pollen coat proteins of *Brassica campestris* that interact with S-locus-related glycoprotein 1 involved in pollen-stigma interaction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2000. 97, pp. 3765–3770.
8. Takayama S., Isogai A. Molecular mechanism of self-recognition in *Brassica* self-incompatibility. *J. Exp. Bot.* 2003. 54, pp. 149–156.
9. Takasaki T., Hatakeyama K., Suzuki G., Watanabe M., Isogai A., Hinata K. The S receptor kinase determines self-incompatibility in *Brassica* stigma. *Nature*. 2000. 403, pp. 913–916.
10. Suzuki G., Watanabe M., Kai N., Matsuda N., Toriyama K., Takayama S., Isogai A., Hinata K. Three members of the S multi-gene family are linked to the S locus of *Brassica*. *Mol. Gen. Genet.* 1997. 256, pp. 257–264.
11. Shiba H., Iwano M., Entani T., Ishimoto K., Shimosato H., Che F.-S., Satta Y., Ito A., Takada Y., Watanabe M., Isogai A., Takayama S. The dominance of alleles controlling self-incompatibility in *Brassica* pollen is regulated at the RNA level. *Plant Cell*. 2002. 14, pp. 491–504.
12. Schopfer C.R., Nasrallah M.E., Nasrallah J.B. The male determinant of self-incompatibility in *Brassica*. *Science*. 199. 286, pp. 120–136.

