

УДК 633.854.78:631.527.8

СТВОРЕННЯ ЗАКРІПЛЮВАЧІВ СТЕРИЛЬНОСТІ СОНЯШНИКУ КОНДИТЕРСЬКОГО НАПРЯМУ ВИКОРИСТАННЯ СТІЙКИХ ДО ТРИБЕНУРОН-МЕТИЛУ

І. О. РАКУЛ – аспірант

Л. О. РЯБОВОЛ – доктор сільськогосподарських наук

Уманський національний університет садівництва

У статті наведено результати досліджень зі створення закріплювачів стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання стійких до гербіциду Експрес, необхідно, щоб батьківські компоненти були резистентними до препарату. Створено закріплювачі стерильності з резистентністю до гербіциду та маркерною ознакою «не розгалужене стебло». Виділено крупноплідні закріплювачі стерильності і їх стерильні аналоги. На самозапилених нащадках проведено добір за низкою господарсько-цінних ознак.

Ключові слова: кондитерський соняшник, вихідний матеріал, стійкість, трибенурон-метил.

Постановка проблеми. Нині в Україні почала інтенсивно розвиватися селекція соняшнику кондитерського напрямку використання. Створення вітчизняних гібридів та відповідно вихідного матеріалу для їх отримання є актуальною проблемою. Поширюється система вирощування соняшнику ExpressSun та SUMO, яка передбачає застосування післясходового гербіциду Експрес, та стійкого до нього гібриду соняшнику. Тому робота передбачає створення батьківських форм резистентних до діючої речовини трибенурон-метилу.

У 2008 Josic повідомив, що стійкість соняшнику до трибенурон-метилу контролюється одним домінантним геном [1]. Але у процесі вирощування таких гібридів помітили, що частина рослин після обробки гербіцидом гинула. Зроблено висновок, що за схрещування стійкої батьківської форми з не стійкою материнською, потомство за генами стійкості гетерозиготне [2].

Отже, для впровадження у виробництво гібридів соняшнику кондитерського напрямку використання стійких до гербіциду Експрес необхідно, щоб усі батьківські компоненти були резистентними до дії трибенурон-метилу.

Аналіз останніх досліджень. Одночасно з селекцією соняшнику на ІМІ-стійкість, розпочато роботу над створенням гібридів, стійких до гербіцидів з діючою речовиною трибенурон-метил з групи сульфонілсечовин. Нині виявлено два джерела стійкості [3, 4, 5]. Перший з них отримано з дикої сульфонілсечовинностійкої рослини *Helianthus annuus*, зібраної з тієї ж області в Канзасі, де було знайдено ІМІ-стійкість. Група вчених USDA-ARS (NDSU) ввели цю генетичну стійкість у культурний соняшник і створили в 2001 р лінії SURES (Miller і Al-Khatib, 2004) [5, 6, 7].

Друге джерело стійкості до сульфонілсечовин було виявлено фірмою DuPont за допомогою проекту зі штучного мутагенезу, який проводився на початку 1990-х років. Цей матеріал був додатково апробований Pioneer / DuPont у 1998–2000 рр, проведена оцінка і відбір окремих мутантів. У результаті мутації соняшнику SU7 було підтверджено можливість отримання стійкості до групи сульфенілсечовинних гербіцидів [3].

Метою нашої роботи було створення закріплювачів стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання резистентних до діючої речовини трибенурон-метилу.

Методика дослідження. Дослідження проводили на дослідних ділянках кафедри генетики, селекції рослин та біотехнології Уманського національного університету садівництва впродовж 2014–2017 рр.

Насіння висівали дворядковими ділянками площею $4,9 \text{ м}^2$, у трьохразовій повторності.

Сівбу проводили вручну квадратно-гніздовим способом ($70 \times 70 \text{ см}$) по 30 насінин у гніздо. Це було зроблено для збільшення об'єму вибірки та пошуку стійких форм.

Ділянки просторово-ізолюваного розмноження обробляли гербіцидом Експрес у фазі 2–8 листків дозою 50 г/га . Гербіцид наносили на листову поверхню рослин та точку росту.

У якості донора резистентності до гербіциду Експрес нами було використано зразки 1002st і S320st.

Для створення резистентних матеріалів проводили бекросування сортів соняшнику кондитерського напрямку використання Лакомка, Запорізький кондитерський, Евріка з донорами стійкості.

Для ідентифікації закріплювачів стерильності використовували маркерні гени, зокрема гени галуження стебла (*Bb*).

Особливістю закріплювачів стерильності є однокошиковість, тобто гени галуження стебла (*B/b*) – слугують маркерною ознакою і повинні знаходитись у гомозиготному домінантному стані.

Результати досліджень. Для створення зразків соняшнику кондитерського напрямку використання доцільно використовувати гібриди, які мають стерильну (*S*) плазму, в гетерозиготному стані гени відновлення-закріплення стерильності (*Rfrf*) та гени галуження стебла (*Bb*) [6]. Стійкі до гербіциду матеріали мають домінантний ген резистентності *Sur/sur* в гомозиготному домінантному стані (*SurSur*), тобто зразки мають ідіотип *SRfrfBbSurSur*.

Для отримання крупноплідних закріплювачів стерильності резистентних до гербіциду, стійкі матеріали схрещували з сортами соняшнику кондитерського напрямку використання, які мають нормальну (*N*) плазму, гени закріплення стерильності у гомозиготному рецесивному стані та гени

галуження стебла (*BB*) у гомозиготному доміантному стані. Ці зразки використовували у якості батьківської форми [7].

За такої схеми гібридизації цінний генетичний матеріал гібридів переноситься на нормальну плазму. Отримані популяції використовували як кандидати в закріплювачі стерильності для виділення закріплювачів.

За схрещування сорту, який має генотип *NrfrfBBSursur*, з гібридами-донорами стійкості отримуємо чотири типи рослин (рис. 1).

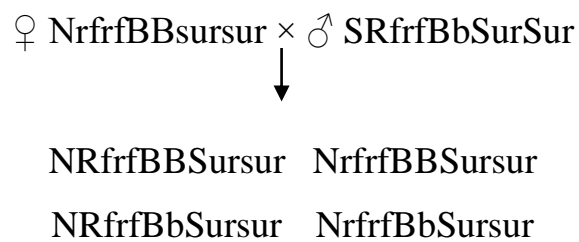


Рис. 1. Отримання кандидатів у закріплювачі стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання з генами резистентності

У 50 % потомства гени закріплення стерильності знаходяться у гомозиготному стані, а в 50 % – у гетерозиготному. За геном галуження стебла рослини розщеплюються у співвідношенні 1:1. Гіллясті форми вибракуюються. За геном стійкості до трибенурон-метилу усі рослини були гетерозиготними. Для переведення генів стійкості у гомозиготний стан проводили їх самозапилення.

Резистентні до гербіциду нащадки від самозапилення, схрещували із стерильною формою. У потомстві проводили аналіз за ознакою «стерильність–фертильність». Якщо усі рослини були стерильними, то рослина-кандидат є закріплювачем стерильності.

У процесі дослідження створено матеріали, які є закріплювачами стерильності із ознакою “не розгалужене стебло” та резистентністю до гербіциду Експрес.

Отримані за самоzapилення нащадки аналізували та проводили добір за морфологічними (табл. 1) та господарсько-цінними ознаками (табл. 2).

Таблиця 1

**Характеристика створених закріплювачів стерильності соняшнику
кондитерського напрямку використання за морфологічними ознаками,
2014–2017 рр.**

Показник	Орешек (standard)	Селекційний матеріал	Материнська форма	Батьківська форма	F ₁	Ступінь домінантності	Справжній гетерозис, %	Гіпотетичний гетерозис, %
Висота рослин, см	155	K269/17	162	156	145	-2,3	-12,1	91,1
		K1617/17	130	156	125	-2,7	-16,3	87,4
		K1302/17	160	180	180	2,5	3,4	105,8
Діаметр кошика, см	37,6	K269/17	21,7	15,2	30,8	2,3	29,9	166,9
		K1617/17	23,6	15,2	28,6	2,1	20,6	147,4
		K1302/17	28,7	18,6	25,8	1,4	2,5	109,0
Довжина насіння, см	1,9	K269/17	1,4	1,3	1,2	-1	-20	88,8
		K1617/17	1,3	1,3	1,5	2,0	7,1	115,3
		K1302/17	1,8	1,2	1,4	-0,6	-15,1	93,3

За висотою у зразків K269/17 і K1617/17 спостерігалось явище депресії, а у зразка K1302/17 відмічено позитивне наддомінування. Висота рослин у ліній була у межах 125–180 см, що відносить їх до групи середньо- та високорослих форм.

Найбільший діаметр кошика мала лінія K269/17 – 30,8 см, середні показники були у зразка K1617/17 – 28,6 см, найменший кошик формувався у лінії K1302/17 – 25,8 см, що у середньому на 9,2 см менше від стандарту. Для

усіх представлених ліній-закріплювачів стерильності характерним є позитивне наддомінування.

За довжиною насіння у двох зразків (K269/17, K1302/17) відмічено депресію та у однієї лінії (K1617/17) позитивний гетерозис.

Не зважаючи на невеликий діаметр кошика маса 1000 насінин у зразка K1302/17 є найбільшою – 122,6 г, що істотно більше ніж у сорту-стандарту. Найменшу масу насіння мав зразок K269/17 – 113,4 г, проте і він перевищував стандарт на 18,1 г.

За масою 1000 насінин у ліній спостерігався позитивний гетерозис.

За вегетаційним періодом два зразки (K269/17 і K1617/17) було віднесено до середньоранніх і один зразок (K1302/17) – до пізньостиглих форм.

Таблиця 2

Характеристика створених закріплювачів стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання за господарсько-цінними ознаками, 2014–2017 рр.

Показник	Орешек (standard)	Гібридна комбінація	Материнська форма	Батьківська форма	F ₁	Ступінь домінантності	Справжній гетерозис, %	Гіпотетичний гетерозис, %
Маса 1000 насінин, г	95,3	K269/17	120,7	40,9	113,4	3,5	26,2	140,3
		K1617/17	105,7	40,9	120,3	4,3	43,3	164,1
		K1302/17	110,8	45,4	122,6	4,9	40,8	156,9
Вміст білка у насінні, %	17,8	K269/17	23,2	18,5	22,3	0,6	-36,6	106,9
		K1617/17	23,8	18,5	21,9	0,5	-3,1	103,5
		K1302/17	20,5	18,2	24,5	1,3	6,2	100,6
ІН НІС ТЬ НА СІН	25,4	K269/17	23,4	18,3	21,7	0,3	-8,0	104,1

		K1617/17	23,7	18,3	23,8	0,8	-1,4	113,3
		K1302/17	28,3	20,1	20,2	-1,9	-23,0	83,4

Вміст білку у створених ліній коливається від 21,9 % (K1617/17) до 24,5 % (K1302/17). У лінії K1302/17 вміст білка успадковувався за типом позитивного наддомінування.

Найнижчий відсоток лушпинності зафіксовано у лінії K1302/17 (20,2 %). У зразків K269/17 та K1617/17 рівень лушпинності визначався за типом проміжного успадкування. У лінії K1302/17 виявлено від'ємний гетерозис [8].

Створені лінії різнилися за фенотиповими ознаками.

Для лінії-закріплювача стерильності K269/17, характерне слабке антоціанове забарвлення гіпокотилу. Листок за розміром середній, світло-зеленого кольору. Гофрованість відсутня. Вушка великі. Зубці дрібні. Форма у поперечному розрізі – плеската. Форма верхівки листа – округла, розміщена вище місця прикріплення листкової пластинки. Опушеність верхівки стебла помірна. Вегетаційний період 95 днів. Язичкові квітки середньої щільності, сильно зігнуті у напрямку кошика. За формою – вузько-яйцеподібні, з помірно-жовтим забарвленням. Трубчасті квітки – жовті зі слабким антоціановим забарвленням приймочки. Зовнішні листки обгортки світло-зелені, не чітко видовженої форми. Довжина верхівки – середня. Висота рослин 145 ± 4 см. Галуження стебла відсутнє. Кошик напівобертений до низу з прямим стеблом. Кошик великий – $30,8 \pm 2$ см, плескатої форми.

Розмір сім'янки – середній (1,2 см), форма – широкояйцеподібна (рис. 2). За основним кольором – чорна. Смугастість на краях та між краями відсутня.



Рис. 2. Насіння лінії-закріплювача стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання K269/17.

У лінії-закріплювача стерильності K1617/17 спостерігається зелене забарвлення гіпокотилію. Листок за розміром малий з помірною інтенсивністю зеленого забарвлення. Гофрованість листкової пластини слабка. Вушка помірні. Зубці дрібні. Форма у поперечному розрізі – сильно увігнута. Форма верхівки листа – загострена. Висота верхівки листка вища місця прикріплення листкової пластинки. Опушеність верхівки стебла сильна. Вегетаційний період 100 днів. Язичкові квітки помірної щільності, оранжево-жовті. Трубочасті квітки за кольором оранжеві. Антоціанове забарвлення приймочки помірне. Форма зовнішніх листків обгортки чітко видовжена. Верхівка довга. Рослина висотою 125 ± 4 см. Положення кошика – напівобернений донизу із зігнутим стеблом. Кошик діаметром $28,6 \pm 3$ см. Форма кошика – плеската.

Сім'янка чорного кольору, видовжена, довжиною 1,5 см (рис. 3). Смугастість на краях слабо виражена, смугастість між краями відсутня.



Рис. 3. Насіння лінії-закріплювача стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання K1617/17

Лінія закріплювач стерильності K1302/17 характеризується середнім розміром листка із слабкою пухирчастістю. Вушка малі. Зубці помірні. Форма у поперечному розрізі – плеската. Форма верхівки листа – загострена. Крила листка слабо виражені. Кут між найнижчими бічними жилками гострий. Висота верхівки листка знаходиться на рівні з місцем прикріплення листкової пластинки. Опушеність верхівки стебла сильна. Вегетаційний період 130 днів. Форма зовнішніх листків обгортки чітко округлі з короткою верхівкою. Рослини висотою 180 ± 5 см. Кошик плескатої форми, має діаметр $25,8 \pm 4$ см, розміщений перпендикулярно за відношенням до прямого стебла.

Сім'янка чорна, довжиною 1,4 см (рис. 4).



Рис. 4. Насіння лінії-закріплювача стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання K1302/17

Форма сім'янки видовжена. Смугастість на краях та між краями відсутня. Плямистість перикарпію відсутня.

Висновки. У результаті проведених досліджень було створено низку крупноплідних закріплювачів стерильності соняшнику кондитерського напрямку використання та їх стерильні аналоги, стійкі до гербіциду групи сульфонілсечовин.

Встановлено, що для отримання вихідних матеріалів з генетичною резистентністю до трибенурон-метилу, необхідно проводити бекросування для перенесення генів стійкості від донорів іноземного походження до вітчизняних форм.

Доведено, що для створення гібридів стійких до гербіциду Експрес необхідно, використовувати батьківські компоненти резистентні до гербіцидів групи трибенурон-метилу.

Література

1. Jovic S., Miklic V., Malidza G., et al. New sunflower hybrids tolerant of tribenuron-methyl. Proc. 17th Int. Sunflower Conf. Vol. 2: Cordoba. Spain. June 8–12. Int. Sunflower Assoc. Paris. 2008. Pp. 505–508

2. Ракул І. О., Рябовол Л. О. Створення стійких до гербіциду Євро-Лайтнінг відновлювачів фертильності кондитерського соняшнику за використання іноземних гібридів. «Наукові доповіді НУБіП України», 2017. Вип. 4 (68).
3. Драган Шкорич, Джеральд Дж. Сейлер, Жао Лью [и др.]. Генетика и селекция подсолнечника. Международная монография. Сербская академия наук и искусств. Ассоциация «Селекция и семеноводство подсолнечника» г. Харьков.: НТМТ. 2015. 540 с.
4. Christov M. FAO Working Group: "Identification. study and utilization in breeding programs of new CMS sources". Report on 1995–1996 activities. Giessen, Germany, March 20–23. 1997. P. 13.
5. Ракул, І. О., Рябовол, Л. О. Створення стійких до гербіциду Євро-Лайтнінг відновлювачів фертильності кондитерського соняшнику за використання іноземних гібридів. «Наукові доповіді НУБіП України» № 4 (68). 2017.
6. Ракул І. О. «Створення відновлювачів фертильності соняшнику стійких до гербіциду Євро-Лайтнінг із використанням кондитерських гібридів». Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Стан і перспективи розробки та впровадження ресурсоощадних, енергозберігаючих технологій вирощування сільськогосподарських культур». Дніпро. 2016. С. 159–161.
7. Miller J. F., Al-Khatib K. Registration of two oilseed sunflower genetic stock. SURES-1 and SURES-2, resistant to tribenuron herbicide. Crop Sci. 39: 2004. Pp.301–302.
8. Конуп І. О., Рябовол, Л. О. «Створення закріплювачів стерильності соняшнику стійких до гербіциду Експрес». Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених «Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур». Київ, 2016. С. 104.

References

1. Jovic, S., Miklic, V., Malidza, G. et al. (2008). New sunflower hybrids tolerant of tribenuron-methyl. Proc. 17th Int. Sunflower Conf. Vol. 2: Cordoba. Spain. June 8–12. 2008. Pp. 505–508 (In Spain)
2. Rakul, I. O., Ryabovol, L. O. (2017) Stvorennia stiikykh do herbitydu Yevro-Laitnih vidnovliuvachiv fertylnosti kondyterskoho soniashnyku za vykorystannia inozemnykh hibrydiv. Naukovi dopovidi NUBiP Ukrainy, 2017, no. 4 (68) (in Ukrainian).
3. Drahan Shkorych, Dzherald Dzh. Seiler, Zhao Liu et al. (2015). Henetyka y selektsyia podsolnechnyka. Mezhdunarodnaia monohrafiia. Serbskaia akademyia nauk y yskusstv. Assotsyatsyia «Selektsyia y semenovodstvo podsolnechnyka» h. Kharkov. NTMT. 2015. 540 s. (In Russian)
4. Christov, M. (1997). FAO Working Group: "Identification. study and utilization in breeding programs of new CMS sources". Report on 1995–1996 activities. Giessen, Germany, March 20–23. 1997. Pp. 13.
5. Rakul, I. O., Ryabovol, L. O. (2017) Creation of Euro-Laying resistant to the herbicide of the restorer of fertility of confectionery sunflower for the use of foreign hybrids. "Scientific reports of NUBiP of Ukraine" No. 4 (68). 2017 (in Ukrainian)
6. Rakul, I. O. "Creation of Euro-Laying-resistant herbicide resistant sunflower fertilizers using confectionery hybrids". Materials of the International Scientific and Practical Conference "Status and Prospects for the Development and Implementation of Resource-saving, Energy-Saving Technologies for Cultivation of Agricultural Crops". Dnepr 2016. pp. 159-161. (in Ukrainian)
5. Miller, J. F., Al-Khatib, K. (2004). Registration of two oilseed sunflower genetic stock. SURES-1 and SURES-2, resistant to tribenuron herbicide. Crop Sci. 3. 2004. Pp. 301–302.
9. Konup, I. O., Ryabovol, L. O. "Creation of sterility sterilizers for sunflower resistant to herbicide Express." Materials of the V International Scientific

and Practical Conference of Young Scientists "The Newest Technologies of Crops Growing". Kyiv, 2016. p. 104. (in Ukrainian)

Анотация

Ракул И. О., Рябовол Л. О. Создание закрепителей стерильности кондитерского подсолнечника устойчивых к трибенурон-метилу.

В статье приведены результаты исследований по созданию закрепителей стерильности кондитерского подсолнечника устойчивых к действию трибенурон-метила.

Создание гибридов кондитерского подсолнечника – это новое направление в селекции культуры. В настоящее время существует потребность в создании родительских компонентов скрещивания для получения отечественных гибридов, которые должны отвечать требованиям производства, а именно, иметь крупные семянки, высокую массу 1000 семян, высокое содержание белка, низкое содержание масла, обеспечивает высокие вкусовые качества и низкий процент лужистости. Особое внимание уделяется созданию гибридов устойчивых к гербицидам с действующим веществом трибенурон-метил из группы сульфонилмочевины.

Экономическая эффективность использования гербицидов определяется величиной сохранения урожая за счет подавления сорняков в посевах, нормы внесения препарата, их стоимости и затрат на использование. Поэтому есть смысл совершенствовать системы химической защиты. Проводить не только довсходовую защиту от двудольных сорняков, но и после всходовую.

В процессе исследований установлено, что для создания гибридов подсолнечника кондитерского направления использования устойчивых к гербициду Экспресс, необходимо, чтобы родительские компоненты были резистентными к трибенурон-метилу. Доказано, что для получения исходных материалов с генетической резистентностью к препарату, необходимо проводить бекросирование с целью переноса генов устойчивости от доноров иностранного происхождения в отечественные формы.

Для создания и идентификации закрепителей стерильности подсолнечника с резистентностью к гербициду Экспресс использовали маркерный ген разветвления стебля. Выделенные крупноплодные закрепители стерильности и их стерильные аналоги проанализировано по ряду хозяйственно-ценных признаков и отобрано лучшие формы в качестве исходного материала для ведения гетерозисной селекции.

Ключевые слова: кондитерский подсолнечник, исходный материал, устойчивость, трибенурон-метил.

Annotation

RAKUL I. O., RYABOVOL L. O. Creation of sterility confirmors for sunflower confectionery directions for use of tribenuron-met sustainable

The article presents the results of studies on the establishment of sterility stabilizers for sunflower confectionery direction using tribenuron-methyl resistant to action.

The creation of hybrid sunflower confectionery use direction - this is a new direction in the selection of culture. Currently, there is a need to create parent crossbreeding components for the removal of domestic hybrids that must meet the production requirements, namely, having a large, full seed, a high weight of 1000 seeds, high protein content, low oil content, which provides high flavoring and low percentage of husk . Particular attention is paid to the formation of hybrids of herbicide-resistant substances of tribenuron-methyl from the group of sulfonylureas.

The economic efficiency of the use of herbicides is determined by the size of the preservation of the crop due to the suppression of weeds in the crops, the rates of the drug, their cost and costs of use. Therefore, it makes sense to improve the chemical protection system. Conduct not only stair protection against dicotyledonous weeds, but also after stairs.

In the course of research, it has been established that for the creation of confectionery hybrids, the use of herbicide Express resistant, it is necessary that the parent components are resistant to tribenuron-methyl. It has been proved that in order to obtain raw materials with genetic resistance to the drug, it is necessary to make a back-up in order to transfer genes of resistance from donors of foreign origin to domestic forms.

To create and identify sterility sterilizers for sunflower with resistance to herbicide Express used marker gene branching stem. The isolated large-fat sterility and their sterile analogues were analyzed for a number of economically valuable signs and selected the best forms as the starting material for heterozygous selection.

Key words: *confectionery sunflower, raw material, resistance, tribenuron-methyl.*