УДК 633.14:575.222

Сравнительная генетико-селекционная характеристика гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи (*Secale cereale* L.), созданных на основе систем ЦМС G- и P-типов

И. С. Гордей[1], *кандидат биол. наук,* ***Э. П. Урбан***[2], *доктор с.-х. наук,*
В. Е. Шимко[1], ***С. И. Гордей***[2], *кандидат биол. наук,* ***О. М. Люсиков***[1], ***О. С. Матиевская***[1],
В. С. Мандрусова[1], ***Т. Е. Варфоломеева***[1]

[1]*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*
[2]*РУП «Научно практический центр НАН Беларуси по земледелию»*

(Дата поступления статьи в редакцию 27.11.2023)

В статье изложены результаты сравнительной генетико-селекционной характеристики гибридов F_1 ржи, созданных на основе систем ЦМС G- и P-типов. Показано, что гибриды F_1 G-ЦМС в сравнении гибридами F_1 P-ЦМС характеризуются более высокой фертильностью колоса (в среднем на 12 %) и, как следствие, повышенным потенциалом продуктивности. Уровень конкурсного гетерозиса гибридов F_1 G-ЦМС составил 13,1–81,4 %, в то время как гибридов F_1 P-ЦМС – 5,7–35,0 %. Выделено 10 высокогетерозисных комбинаций для использования в селекции гибридных сортов озимой ржи.

The paper deals with the results of a comparative genetic and selective characterization of F1 rye hybrids developed on the basis of G- and P-type CMS systems. It is shown that F1 G-CMS compared to F1 P-CMS hybrids are characterized by a higher ear fertility (on average by 12 %) and consequently, by increased productivity. The heterosis level of F1 G-CMS hybrids was 13.1–81.4 %, while for F1 P-CMS hybrids it was 5.7–35.0 %. Ten highly heterotic combinations were identified for the use in breeding of hybrid varieties of winter rye.

Введение

Главной задачей селекции озимой ржи (*Secale cereale* L.) является повышение ее реальной продуктивности. Рожь в нашей стране имеет в среднем урожайность около 30 ц/га и ежегодно уступает по этому показателю другим представителям хлебных злаков (пшенице и тритикале) на ~8–10 ц/га [1]. Основным путем повышения продуктивности ржи является использование эффекта гетерозиса. Гетерозисные гибриды F_1 имеют более высокую на 15–20 % урожайность по сравнению с лучшими популяционными сортами, а также характеризуются относительной короткостебельностью, более высокой устойчивостью к болезням и лучшим качеством зерна [2, 3].

Однако в Беларуси доля гибридных сортов в структуре посевных площадей ржи пока не превышает 10 %. При этом возделываются в основном гибридные сорта немецкой фирмы KWS. Тем не менее, на сегодняшний день Государственный реестр страны уже включает 4 гибрида ржи отечественной селекции, которые имеют урожайность, адаптивность и качество зерна на уровне лучших немецких и при этом значительно дешевле [4]. В связи с этим создание собственных гибридных сортов ржи актуально.

Невысокие темпы селекции гетерозисных гибридов F_1 ржи обусловлены сложностью технологии их создания [5]. Селекция гибридных сортов ведется на основе самофертильных (инцухт) линий с использованием системы цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Для создания системы ЦМС необходимо выделить источники ЦМС, а также создать серию инцухт-линий закрепителей стерильности и восстановителей фертильности с высокой комбинационной способностью и слабой инбредной депрессией. При этом источник ЦМС и закрепитель стерильности служат основой для создания мужски стерильного материнского компонента гибрида (МС-линия), а восстановитель фертильности – отцовского (ВФ-линия). Использование такой системы позволяет получать фертильные гетерозисные гибриды F_1 без трудоемкой ручной кастрации. Однако выделение и селекция всех компонентов системы – процесс сложный и длительный.

У ржи известны различные типы ЦМС (C, G, S, R, P, V) в зависимости от генетического контроля, но в практической селекции гибридных сортов ржи преимущественно используется система на основе источников P-типа («Pampa») в связи с высокой частотой закрепителей стерильности. Однако при использовании P-системы восстановление мужской фертильности у гибридов часто бывает неполным и сильно зависит от условий окружающей среды. Это приводит к потерям урожая вследствие черезерницы и повышенному поражению колосьев спорыньей [6, 7].

Наиболее перспективной в настоящее время является система ЦМС G-типа («Gülzow»). Melz с соавт. показали, что гибриды, полученные на этой системе, характеризуются полным восстановлением мужской фертильности, не зависящим от условий окружающей среды [8]. Однако на сегодняшний день зарегистрировано лишь 3 коммерческих гибрида на основе G-типа ЦМС (в Германии). В сельскохозяйственном производстве Беларуси такие гибриды отсутствуют, не создано достаточное количество исходного материала для их массового получения, подробно не изучены их генетико-селекционные характеристики. Все это обусловливает актуальность работы в данном направлении.

Методика и объекты исследований

Исследования проводили на Биологической опытной станции ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» в 2022–2023 гг.

Материалом для исследований служила коллекция из 14 материнских мужски стерильных линий (МС) и

16 отцовских линий восстановителей фертильности (ВФ) для G- и P-систем ЦМС. МС- и ВФ-линии создавали на основе лучших белорусских сортов (Нива, Лото, Павлинка, Зарница, Талисман и Плиса F_1), а также гибридных образцов (I/125p3, M13, I/125/3/2, 192/51/2, 192/51/4, 98/94/4 и 88/94/45) по общепринятой методике [9]. Идентификацию типа ЦМС и генов восстановления фертильности (*Rf*) проводили с применением ДНК-маркеров [10, 11]. Перевод созданных МС и ВФ-линий на самофертильную основу осуществляли с использованием селектированных нами источников самофертильности (*Sf*) К-3 и Л-353.

Для создания гибридов F_1 проводили гибридизацию МС-линий с ВФ-линиями. Семена полученных гибридов высевали на делянках 1 м^2 с нормой высева 120 семян/м^2. Генетико-селекционную оценку гибридов F_1 проводили по признакам высоты растений, продуктивной кустистости, озерненности колоса, массы 1000 зерен, продуктивности с 1 м^2, уровня истинного и конкурсного гетерозиса. В качестве контролей использовали лучший немецкий гибрид F_1 Serafino и сорт-стандарт Офелия.

Истинный гетерозис ($Г_{ист}$, %) рассчитывали по формуле

$$Г_{ист} = (F_1 – P_{лучш}) \div P_{лучш} \cdot 100,$$

где F_1 – продуктивность гибрида F_1; $P_{лучш}$ – продуктивность лучшей родительской линии.

Конкурсный гетерозис ($Г_{конк}$, %) рассчитывали по формуле

$$Г_{конк} = (F_1 – St) \div St \cdot 100,$$

где F_1 – продуктивность гибрида F_1; *St* – продуктивность сорта-стандарта.

Результаты и обсуждение

В результате гибридизации материнских МС-линий G- и P-типов с отцовскими ВФ-линиями было получено по 15 гибридов F_1 ржи на каждой из систем ЦМС. В таблице 1 представлены комбинации скрещивания и результаты оценки гибридов F_1 по комплексу селекционно-ценных признаков.

Необходимо отметить, что частота восстановителей фертильности для P-типа (*Rfp*) ЦМС крайне низка (~3,5 %), поэтому их отбирали с применением ДНК-маркеров. Частота генов-восстановителей для G-типа (*Rfg*), наоборот, достаточно высокая (~99 %). В связи с этим идентифицированные восстановители к P-типу ЦМС, как правило, восстанавливают фертильность и G-типа.

Основным отличием двух систем ЦМС является уровень восстановления фертильности у гибридов F_1 (таблица 1). Установлено существенное влияние типа системы ЦМС на уровень фертильности (озерненности) колоса у потомства (P = 0,00041). По другим показателям существенных различий между гибридами F_1 G- и P-систем ЦМС не обнаружено. В целом полученные гибриды характеризовались высокими показателями основных элементов структуры урожайности. Продуктивная кустистость находилась на уровне 8 ст./раст., масса 1000 зерен – на уровне 40–45 г. Растения были коротко- и среднестебельными (80,5–125,6 см). В итоге гибриды F_1, созданные с использованием G-системы ЦМС, были более продуктивными (около 520 г/м^2 в среднем и до 800–1000 г/м^2 у гибридов отдельных комбинаций), чем гибриды F_1, созданные с использованием P-системы (до 800 г/м^2, в среднем – 420 г/м^2). Продуктивность гибридов ржи в наших исследованиях в наибольшей степени зависела от совместного эффекта двух элементов – продуктивной кустистости и фертильности колоса (r = 0,7). Более высокая продуктивность гибридов, созданных на системе ЦМС G-типа, по сравнению с гибридами, созданными на системе ЦМС P-типа, связана с более высокой фертильностью колоса первых (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика гибридов F_1 ржи по селекционно-ценным признакам, созданных на основе систем ЦМС G- и P-типов (среднее, 2022–2023 гг.)

Комбинация скрещивания		Количество растений к уборке, шт.	Высота растений, см	Продуктивная кустистость, ст./раст.	Фертильность, колоса, %	Масса 1000 зерен, г	Продуктивность, г/м^2
♀МС-линии	♂ВФ-линии						
Гибриды F_1 G-типа							
МС 2	ВФ 36	67	124,3±2,4	5,3±0,4	93,5±1,8	37,8±1,6	111,5
МС 3	ВФ 210	75	110,7±1,8	7,8±0,3	96,5±1,7	44,1±0,4	246,1
МС 8	ВФ 469	114	112,1±2,3	8,1±0,4	90,6±2,2	41,7±0,8	1039,2
МС 9	ВФ 70	82	103,0±1,9	5,2±0,6	96,1±1,9	39,7±0,9	221,8
МС 12	ВФ 73	78	96,5±1,7	7,7±0,5	91,2±2,3	41,7±0,6	233,7
МС 13	ВФ 89	95	110,5±2,3	8,2±0,3	98,2±0,3	42,8±1,5	767,6
МС 23	ВФ 94	87	110,9±2,1	8,6±0,4	98,4±0,5	43,4±1,7	648,0
МС 2	ВФ 102	80	120,2±2,7	9,0±0,6	97,3±0,8	49,0±0,7	444,5
МС 3	ВФ 88	83	123,3±1,9	6,9±0,5	94,9±2,6	40,8±0,8	380,1
МС 8	ВФ 100	102	125,6±2,0	8,4±0,5	96,8±0,9	44,9±1,6	922,6
МС 9	ВФ 69	61	103,8±1,8	7,7±0,4	94,4±1,2	42,4±1,7	133,6
МС 12	ВФ 38	96	115,4±1,9	7,1±0,5	95,9±1,0	38,2±4,7	405,1
МС 13	ВФ 74	112	80,5±1,5	9,2±0,3	92,6±1,4	39,5±0,7	411,3
МС 23	ВФ 1	107	105,2±1,7	8,8±0,4	94,8±1,5	45,2±1,1	926,1
МС 8	ВФ 191	119	115,9±2,1	9,3±0,4	97,4±1,0	43,0±2,7	889,6
Среднее		*91*	*110,5*	*7,8*	*95,2*	*42,3*	*518,7*

Окончание табл. 1

Комбинация скрещивания		Количество растений к уборке, шт.	Высота растений, см	Продуктивная кустистость, ст./раст.	Фертильность, колоса, %	Масса 1000 зерен, г	Продуктивность, г/м²
♀МС-линии	♂ВФ-линии						
Гибриды F_1 Р-типа							
МС 5с	ВФ 36	89	123,1±2,2	7,9±0,5	67,3±2,9	45,2±1,7	265,2
МС 53	ВФ 210	73	117,7±2,0	8,6±0,5	85,9±4,0	45,1±1,7	285,1
МС 54	ВФ 469	106	115,4±2,1	9,1±0,2	94,4±2,0	44,5±2,5	773,6
МС 56	ВФ 70	76	103,9±1,7	8,0±0,4	83,8±7,5	51,2±1,5	282,1
МС 60	ВФ 73	81	110,4±1,7	8,4±0,4	92,0±1,8	44,5±1,7	448,4
МС 61	ВФ 89	84	110,6±1,9	8,9±0,3	96,4±1,5	46,4±4,3	621,4
МС 98	ВФ 94	72	115,5±2,3	7,8±0,5	85,7±6,8	43,5±1,8	472,1
МС 5с	ВФ 102	85	120,4±2,1	8,0±0,5	94,0±1,7	43,5±1,0	605,7
МС 53	ВФ 88	69	105,8±1,6	9,3±0,4	80,0±6,6	40,8±2,4	185,6
МС 54	ВФ 100	98	123,2±3,0	9,2±0,3	63,3±3,3	45,4±1,3	464,1
МС 56	ВФ 69	109	115,3±1,9	9,8±0,4	90,0±2,8	46,8±1,1	668,8
МС 60	ВФ 9	63	105,2±1,8	6,1±0,6	87,1±2,1	40,4±1,5	75,9
МС 61	ВФ 38	114	90,4±1,7	7,9±0,3	89,4±1,6	35,8±1,6	566,7
МС 98	ВФ 74	78	90,9±2,0	9,1±0,5	79, 7±7,2	42,9±4,6	437,0
МС 53	ВФ1	71	98,5±1,8	5,8±0,6	61,0±4,7	47,2±0,8	147,6
Среднее		85	109,8	8,3	83,3	44,4	420,0
*P**		–	*0,85*	*0,32*	*0,00041*	*0,11*	*0,32*
Контроль (*St*)							
Serafino F_1		83	11,8±0,2	8,8±0,5	84,6	48,0±1,9	573,0
Офелия		79	9,3±0,1	7,3±0,4	91,0	46,4±1,8	429,9

**P* – показатель статистической значимости различий между показателями гибридов G- и Р-типов ЦМС.

Существенные различия по уровню восстановления фертильности растений между системами ЦМС G- и Р-типа обусловлены, вероятно, генетической специфичностью их контроля. Показано, что G-тип ЦМС контролируется митохондриальным геномом и двумя основными генами-восстановителями на хромосомах 4RL (*Rfg1*) и 3RL (*RfNOS1*), а также двумя минорными генами на хромосомах 3R (*Rfg2*) и 6R (*Rfg3*) [6]. Р-тип ЦМС имеет более сложный генетический контроль. На сегодня известно, что в нем участвует «стерильная» цитоплазма и 5 основных генов восстановления на хромосомах 1RS, 4RL (*Rfp1*, *Rfp2*, *Rfp3*) и 6R (2 доминантных модификатора), а также 3 минорных гена на хромосомах 3RL, 4RL и 5R. Гены *Rfp2* и *Rfp3* являются относительно «слабыми» восстановителями. Наиболее «сильным» геном-восстановителем в системе Р-типа является *Rfp1*, однако он оказывает некоторые нежелательные эффекты (увеличивает высоту растений и уменьшает крупность зерна) [12].

Для оценки комбинационной способности материнских и отцовских линий оценивали уровни истинного ($Г_{ист}$) и конкурсного ($Г_{конк}$) гетерозиса у гибридов. Наиболее показательным является конкурсный гетерозис, так как он характеризует превышение по продуктивности полученного гибрида над лучшим сортом (стандартом).

В результате анализа из 30 гибридных комбинаций выделено 10 высокогетерозисных, причем 6 из них относились к G-типу и 4 – к Р-типу. Уровень конкурсного гетерозиса по отношению к F_1 Serafino у гибридов G-типа составил 13,1–81,4 %, по отношению к сорту Офелия – 50,7–141,7 %; у гибридов Р-типа – 5,7–35,0 % и 40,9–79,9 % соответственно (таблица 2).

Таблица 2 – Уровень истинного ($Г_{ист}$) и конкурсного ($Г_{конк}$) гетерозиса у гибридов F_1 ржи, созданных на основе систем ЦМС G- и Р-типов (среднее, 2022–2023 гг.)

Комбинация скрещивания		Уровень гетерозиса, %			Комбинация скрещивания		Уровень гетерозиса, %		
♀МС-линии	♂ВФ-линии	$Г_{ист}$	$Г_{конк}$		♀МС-линии	♂ВФ-линии	$Г_{ист}$	$Г_{конк}$	
			Serafino F_1	Офелия				Serafino F_1	Офелия
G-тип					**Р-тип**				
МС 2	ВФ 36	63,0	–80,5	–74,1	МС 5с	ВФ 36	287,7	–53,7	–38,3
МС 3	ВФ 210	–5,2	–57,1	–42,8	МС 53	ВФ 210	9,8	–50,2	–33,7
МС 8	ВФ 469	509,1	81,4	141,7	МС 54	ВФ 469	353,5	35,0	79,9
МС 9	ВФ 70	66,5	–61,3	–48,4	МС 56	ВФ 70	111,6	–50,8	–34,4
МС 12	ВФ 73	162,3	–59,2	–45,6	МС 60	ВФ 73	403,3	–21,7	4,3
МС 13	ВФ 89	451,0	34,0	78,6	МС 61	ВФ 89	346,1	8,4	44,5
МС 23	ВФ 94	320,5	13,1	50,7	МС 98	ВФ 94	206,4	–17,6	9,8
МС 2	ВФ 102	98,2	–22,4	3,4	МС 5с	ВФ 102	170,0	5,7	40,9
МС 3	ВФ 88	161,2	–33,7	–11,6	МС 53	ВФ 88	27,6	–67,6	–56,8
МС 8	ВФ 100	535,4	61,0	114,6	МС 54	ВФ 100	219,6	–19,0	8,0
МС 9	ВФ 69	–32,7	–76,7	–68,9	МС 56	ВФ 69	237,1	16,7	55,6
МС 12	ВФ 38	347,1	–29,3	–5,8	МС 60	ВФ 9	–32,1	–86,8	–82,3
МС 13	ВФ 74	497,8	–28,2	–4,3	МС 61	ВФ 38	525,5	–1,1	31,8
МС 23	ВФ 1	181,1	61,6	115,4	МС 98	ВФ 74	535,2	–23,7	1,7
МС 8	ВФ 191	390,7	55,3	106,9	МС 53	ВФ1	–55,2	–74,2	–65,7

Таким образом, результаты наших исследований показали, что использование системы ЦМС G-типа для создания гетерозисных гибридов F_1 ржи является перспективным, поскольку эта система характеризуется высокой восстанавливающей фертильность способностью, что, в конечном итоге, благоприятно сказывается на урожайности и, следовательно, на устойчивости растений ржи к спорынье.

Главным недостатком системы G-типа является крайне низкая частота закрепителей стерильности в популяциях, что создает определенные сложности в создании и поддержании МС-форм. Попадание даже небольшого количества чужеродной пыльцы в посевы стерильных линий этого типа ЦМС приводит к массовому выщеплению фертильных генотипов уже во 2–3-м поколениях, что делает всю систему непригодной для дальнейшего получения гибридов. В связи с этим селекция МС-форм G-типа должна вестись в условиях очень строгой пространственной изоляции.

Выводы

Исследования показали, что основным отличием гибридов F_1 ржи, созданных на основе системы ЦМС G-типа, от гибридов F_1, созданных на основе системы ЦМС P-типа, является более высокая озерненность колоса (в среднем на 12 %), что связано с характерным для G-типа полным восстановлением фертильности (≥90 %). Установлено, что гибриды F_1, созданные на основе G-ЦМС, имеют более высокий уровень конкурсного гетерозиса (13,1–81,4 %), чем гибриды F_1, созданные на основе P-ЦМС (5,7–35,0 %). Выделены гетерозисные комбинации: 6 для G-системы и 4 для P-системы. Данные комбинации будут использованы в селекции для создания коммерческих гибридных сортов озимой ржи.

Литература

1. Сельское хозяйство Республики Беларусь: статистический сб. / Национальный статистический комитет Республики Беларусь; отв. ред. И. В. Медведева. – Минск, 2021. – 179 с.
2. Селекция восстановителей мужской фертильности для получения гибридов F_1 озимой ржи / А. А. Гончаренко [и др.] // Аграрная наука. – 2019. – № 5. – С. 53–56.
3. Урбан, Э. П. Селекция и проблемы возделывания гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи в Республике Беларусь / Э. П. Урбан, С. И. Гордей // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук. – 2018. – Т. 56, № 4. – 448–455.
4. Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений / М-во сел. хоз-ва и продовольствия Респ. Беларусь, ГУ «Гос. инспекция по испытанию и охране сортов растений; отв. ред. В. А. Бейня. – Минск, 2023. – 300 с.
5. Miedaner, T. Hybrid breeding in rye (*Secale cereale* L.) / T. Miedaner, F. Laidig // Advances in plant breeding strategies: cereals / T. Miedaner, F. Laidig ; ed: J. M. Al-Khayri, S. M. Jain, D. V. Johnson. – Cham, 2019. – Vol. 5. – Ch. 9. – P. 343–372.
6. Genomic scan of male fertility restoration genes in a «Gülzow» type hybrid breeding system of rye (*Secale cereale* L.) / N. M. Vendelbo [et al.] // Int. Journ. of Molecular Science. – 2021. – Vol. 22, N 17. – Mode of access: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8431178/pdf/ijms-22-09277.pdf. – Date of access: 27.09.2023.
7. Ergot infection in winter rye hybrids shows differential contribution of male and female genotypes and environment / A. Kodisch [et al.] // Euphytica. – 2020. – Vol. 12, № 1. – P. 1–14.
8. Melz, G. Genetics of a male-sterile rye of «G-type» with results of the first F_1-hybrids / G. Melz, G. Melz, F. Hartman // Plant Breed. Seed Sci. – 2003. – Vol. 47. – P. 47–55.
9. Урбан, Э. П. Методические рекомендации по селекции и семеноводству гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи / Э. П. Урбан, С. И. Гордей. – Жодино: РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», 2011. – 22 с.
10. Stojalowski, S. Identification of sterility-inducing cytoplasms in rye using the plasmotype-genotype interaction test and newly developed SCAR markers / S. Stojalowski, M. Lapinski, M. Szklarzyk // Theor. and Appl. Genet. – 2006. – Vol. 112. – P. 627–633.
11. Development of PCR-based markers linked to dominant genes for male – fertility restoration in “Pampa” CMS winter rye (*Secale cereale* L.) / Stracke, S. [et al.] // Theor. Appl.Genet. – 2003. – Vol. 106. – P. 1184–1190.
12. Miedaner, T. Effective pollen-fertility restoration is the basis of hybrid rye production and ergot mitigation / T. Miedaner, V. Korzun, P. Wilde // Plants. – 2022. – Vol. 11, № 9. – Mode of access: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9104404/pdf/plants-11-1115.pdf – Date of access: 21.09.2023.