

ВВЕДЕНИЕ

Генетическая коллекция подсолнечника ВИР включает 343 линии, созданные сотрудниками института и филиала Кубанская опытная станция ВИР: 1 – линии с цитоплазматической мужской стерильностью (линии А) и их фертильные аналоги (линии Б); 2 – линии-восстановители фертильности пыльцы, несущие аллели генов *Rf*; 3 – автофертильные линии с фертильной цитоплазмой, обладающие наследственными изменениями морфологических признаков.

Инбредные линии получены путем многократного самоопыления сортов – популяций из коллекции ВИР. В потомстве от самоопыления сорта происходил отбор автофертильных генотипов. После каждого самоопыления проводился отбор по выровненности по морфологическим признакам и важным в селекционном отношении признакам: наклону корзинки, ее толщине, прикреплению к стеблю, продолжительности вегетационного периода. На первом этапе получали нерасщепляющиеся по морфологическим признакам автофертильные линии. Затем путем многократного беккроссирования источника ЦМС РЕТ1, полученного от Леклерка (Leclercq, 1969), создавали стерильный аналог линии. Отбирая растения, несущие функциональные аллели генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf*), с использованием парных скрещиваний, создавали линии-восстановители.

Линии генетической коллекции подсолнечника, различающиеся по комплексу морфологических и хозяйственно ценных признаков, могут служить исходным материалом для создания гетерозисных гибридов. Селекция гетерозисных гибридов подсолнечника предполагает создание материнских стерильных линий ЦМС и отцовских линий-восстановителей фертильности, которые несут функциональные (как правило, доминантные) аллели генов *Rf*. Для тестирования родительских линий по признаку способности к супрессии фенотипа ЦМС стерильные линии скрещивают с предполагаемыми восстановителями и полученные гибриды F₁ оценивают по признаку фертильности пыльцы. Этот процесс может быть ускорен при использовании функциональных (аллель-специфичных) либо тесно сцепленных с локусами генов *Rf* молекулярных маркеров. В семеноводстве гибридов подсолнечника широко используются гены *Rf1* и *Rf2*, однако считается (Dominguez-Gimeneze, Fick, 1975; Miller, Fick, 1997), что только ген *Rf1* отвечает за восстановление фертильности ЦМС РЕТ1. Согласно современным представлениям (Yu et al., 2003), ген *Rf1* локализован в группе сцепления 13 интегрированной генетической карты подсолнечника вместе с локусом *P15/P18*, определяющим устойчивость к ложной мучнистой росе.

В настоящем выпуске представлена характеристика линий подсолнечника по морфологическим признакам, составленная по результатам многолетних наблюдений за их проявлением, а также приведены данные молекулярно-генетического анализа, выполненного с использованием специфичных для генетической системы ЦМС-*Rf* молекулярных маркеров. Описание признаков выполнено в соответствии с классификатором (Анащенко, 1976). Для всех линий (среднее из 10 растений) измерены высота растения и диаметр корзинки, определена продолжительность межфазных периодов всходы-цветение и всходы-созревание. Ограниченный объем каталога не позволяет нам представить многолетние данные по высоте растения, диаметру корзинки, продолжительности периодов всходы-цветение и всходы-созревание. Описание этих признаков дано по результатам их изучения у всех линий в 2016 году. Линии, для которых отсутствуют данные промеров, не были высажены в 2016 году. Описано несколько типов ветвления: 1) по всему стеблю, когда боковые ветви расположены в пазухе каждого листа, 2) верхнее ветвление – ветви располагаются в верхней трети стебля, 3) ветви расположены только в средней части стебля, 4) нижнее ветвление – как правило, 4 ветви из нижних пазух листа.

Представлены результаты генотипирования линий по наличию/отсутствию SCAR-маркеров HRG01 и HRG02, сцепленных с доминантным аллелем гена *Rf1* (Horn et al., 2003), а также STS-маркера митохондриального локуса *orfH522*, ассоцииированного с ЦМС PET1 (Schnabel et al., 2008). Сцепленный характер наследования маркерных фрагментов и признака восстановления fertильности подтвержден при анализе расщепляющихся гибридных популяций от межлинейных скрещиваний с участием линий коллекции (Анисимова и др., 2017).

Геномную ДНК выделяли двумя способами: из этиолированных 5–7-дневных проростков, в соответствии с разработанным нами протоколом (Анисимова и др., 2010) и из зеленых листьев полевых растений с использованием модифицированного протокола (Lee et al., 2007). Оба протокола являются модификацией СТАВ метода (Doyle, Doyle, 1990). Результаты молекулярного скрининга образцов ДНК, выделенных из одной и той же линии двумя различными способами, оказались полностью идентичными.

Для идентификации SCAR-маркера HRG01 (454 пн) использовали пару праймеров K13 (прямой 5'-TAT GCA TAA TTA GTT ATA CCC-3', обратный 5'-ACA TAA GGA TTA TGT ACG GG-3'); для идентификации SCAR-маркера HRG02 (740 пн) использовали пару праймеров Y10 (прямой 5'-AAA CGT GGG AGA GAG GTG G-3', обратный 5'-AAA CGT GGG CTG AAG AAC TA-3'). Для идентификации STS-маркера митохондриального локуса *orfH522*, ассоцииированного с ЦМС PET1 и

являющегося диагностическим признаком для идентификации стерильного (S PET1) или фертильного (F) типа цитоплазмы (размер маркерного фрагмента 516 пн), использовали пару праймеров orfH522 (прямой 5'-TGC CTC AAC TGG ATA AAT TCA C-3', обратный 5'-ACC GTT CTC TCA CGA GTT GAA G-3'). ПЦР проводили при следующих условиях: денатурация при 94°C (45 сек), отжиг при 58°C (праймеры K13) и 65°C (праймеры Y10) в течение 45 сек, элонгация при 72°C (60 сек), количество циклов – 35 для праймеров K13 и 34 – для праймеров Y10.

Условия ПЦР для праймеров orfH522 были следующими: денатурация при 94°C (45 сек), отжиг при 58°C (праймеры K13) и 65°C (праймеры Y10) в течение 60 сек, элонгация при 72°C (60 сек), количество циклов – 35. Реакционная смесь (25 мкл) содержала 50 нг геномной ДНК, однократный реакционный буфер (1,5 mM MgCl₂), по 0,4 мкМ каждого из праймеров, по 0,2 mM каждого dNTP и 1,5–2,0 ед. Таq-ДНК полимеразы. Электрофорез амплифицированных фрагментов проводили в 1,8%-ном агарозном геле в 1X TBE, окрашивали бромистым этидием и визуализировали в ультрафиолетовом свете. Праймеры были синтезированы ЗАО ЕвроГен (г. Москва). Реактивы для ПЦР (10X реакционный буфер, dNTP, Таq-ДНК полимераза) поставлены фирмой Диалат (Москва), прочие реактивы – от компании Хеликон (Санкт-Петербург).

Результаты молекулярно-генетического анализа представлены в графах 10–14. Присутствие маркерного фрагмента обозначено знаком (+), отсутствие – знаком (–). Путем сравнения данных ПЦР-анализа (наличие–отсутствие маркера orfH522) и данных генеалогии линий был определен тип цитоплазмона изученных линий (S – стерильный, F – фертильный). Стерильный тип цитоплазмы у линий-восстановителей фертильности может служить дополнительным признаком, указывающим на присутствие в генотипе линии доминантного аллеля гена *Rf1*.

В графе 15 («Примечание») приведена дополнительная информация – ранее идентифицированные у отдельных генотипов маркерные аллели генов, контролирующих полиморфные варианты белков семян – гелиантинина и 2S альбуминов (Anisimova et al., 2003, 2004; Gavrilova et al., 2014), а также уникальные, не опубликованные в литературе аллели SSR-локусов, предположительно сцепленных с локусом *Rf1* (Карабицина и др., 2016).

Сорта подсолнечника ‘Мастер’ и ‘Передовик’ использованы в качестве стандартов.

Miller J. F., Fick G. N. Genetics of sunflower. In: Sunflower technology and production / Ed. A. A. Schneiter. Madison, 1997. P. 441–495.

Schnabel U., Engelmann U., Horn R. Development of markers for the use of the PEF1 cytoplasm in sunflower hybrid breeding // Plant Breed. 2008. №. 6. P. 541–652.

Yu J. K., Tang S., Slabaugh M. B., Heesacker A., Cole G., Herring M., Soper J., Han F., Chu W. C., Webb D. M., Thompson L., Edwards K. J., Berry S., Leon A. J., Grondona M., Olungu C., Maes N., Knapp S. J. Towards a saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower // Crop. Sci. 2003. Vol. 43. P. 367–387.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
Введение	3
Сокращения, условные обозначения	4
Характеристика линий подсолнечника по фенотипическим признакам и молекулярным маркера (Таблица)	6
Литература	20