

УДК 633.854.78:[631.527.53+632.4]

А. А. ВОЛОТОВИЧ, Т. А. СИЛКОВА, Н. С. ФОМЧЕНКО

**ОЦЕНКА КОМБИНАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ  
ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*HELIANTHUS ANNUUS* L.)  
ПО ПОЛЕВОЙ УСТОЙЧИВОСТИ К ПАТОГЕНУ  
*SCLEROTINIA SCLEROTIORUM***

Полесский государственный университет, Пинск,  
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 31.03.2008)

**Введение.** *Sclerotinia sclerotiorum* – сумчатый гриб-некротроф, один из основных патогенов подсолнечника *Helianthus annuus* L., возбудитель белой гнили у более чем 350 видов растений [1].

Селекционная работа на устойчивость подсолнечника масличного (*Helianthus annuus* L.) к склеротиниозу ведется крупнейшими научными центрами мира с 60-х годов XX века. Анализ всех известных на сегодняшний день публикаций, связанных с селекцией подсолнечника на устойчивость к белой гнили, указывает на то, что «до сих пор не создано коммерчески ценных сортов и гибридов с устойчивостью, удовлетворяющей насущным требованиям в условиях жесткого инфекционного фона» (цитировано по [1]). Тем не менее различия в восприимчивости к патогену у разных сортов, линий и гибридов  $F_1$  подсолнечника существуют.

Адаптивная селекция растений направлена на повышение устойчивости генотипов к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды [2]. Интенсификация селекционного процесса тесно связана с использованием генетико-статистических методов, дающих исчерпывающую информацию о генетических системах контроля количественных признаков и важнейших биологических свойств, для правильного выбора стратегии и тактики работы с конкретным материалом. В селекционной практике широкое применение нашли методы генетически регулируемого гетерозиса. Создание высокогетерозисных гибридов достигается сочетанием приемов инбридинга, оценки комбинационной способности самоопыленных линий и направленного подбора родительских компонентов [3, 4].

Среди видов рода *Helianthus* нет ни одного, обладающего абсолютной устойчивостью к возбудителю белой гнили. Устойчивость подсолнечника носит полигенный характер [1, 5], поэтому поиск и отбор относительно устойчивых (толерантных) к патогену исходных родительских форм подсолнечника на всех этапах селекционного процесса существенно повышает вероятность создания устойчивых к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* гибридов  $F_1$ .

Данная работа посвящена анализу комбинационной способности 44 линий подсолнечника масличного селекции ИГиЦ НАН Беларуси в системе регулярных и нерегулярных тестерных скрещиваний с целью выявления линий, обладающих высокой, положительной ОКС полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum*.

**Материалы и методы исследования.** Испытания проводили на биологической опытной станции Института генетики и цитологии НАН Беларуси в 2006–2007 гг. Повышенный инфекционный фон патогена *Sclerotinia sclerotiorum* создавался путем сокращения продолжительности ротации подсолнечника в процессе гетерозисной селекции (1998–2006) до 3 лет.

В 2006 г. испытывали 74 гибрида  $F_1$  подсолнечника, полученных в системе нерегулярных тестерных скрещиваний с участием 21 ЦМС-аналога линий закрепителей стерильности

(А-линии) и 13 линий-восстановителей фертильности пыльцы (Rf-линий). В 2007 г. испытывали 33 гибрида  $F_1$  подсолнечника, полученных в системе регулярных тестерных скрещиваний с участием 11 ЦМС-аналогов линий закрепителей стерильности и 3 Rf-линий. Линии M818Rf, M702Rf, M791Rf и M379A испытывали в разных схемах скрещиваний.

Гибриды  $F_1$  подсолнечника выращивали рендомизированными блоками в трехкратной повторности (по 30–40 растений в каждой) в условиях свободного опыления на участках экологического испытания. Семена простых межлинейных гибридов  $F_1$  подсолнечника получали годом ранее на участках гибридизации в системе скрещиваний линия × тестер. При этом родительские линии высаживали параллельными рядами, с чередованием отцовских Rf-линий и стерильных (ЦМС-) аналогов материнских форм. Скрещивания проводили под изоляторами типа «рукав» [6], размером 40×80 см.

Посев семян производили ручными сеялками по 2–4 семянки в лунку на глубину 7–9 см, с площадью питания 70×35 см на одно растение в оптимальные для посева сроки (температура почвы на глубине заделки семян не ниже +10–12 °С). После появления всходов в лунке оставляли одно растение (прорывку производили на стадии 3 пар настоящих листьев).

Общий математический анализ морфологических признаков проводили по стандартным методам вариационной статистики [7, 8] с использованием программ АВ-Stat 1.1 (разработанной в ИГиЦ НАН Беларуси) и STATISTICA 6.0 [9].

В 2007 г. анализ комбинационной способности осуществляли методом топкросса без реципрокных скрещиваний на основе модели эксперимента П. R. Comstock, Н. Robinson, обобщенной О. Kempthorne [10]. Дисперсионный анализ комбинационной способности, расчет величин эффектов ОКС, варiances и констант СКС, стандартных ошибок разности эффектов и наименьшей существенной разности эффектов, а также оценку компонентов варiances комбинационной способности проводили по принятым формулам [3] с использованием программы АВ-Stat 1.1. В случае нерегулярных скрещиваний эффекты ОКС, варiances и константы СКС, стандартные ошибки разности эффектов и наименьшую существенную разность эффектов рассчитывали по методике Г. К. Дремлюка и В. Ф. Герасименко [11].

**Результаты и их обсуждение.** Комбинационная способность – это генетически обусловленный признак, который передается потомству как при самоопылении, так и при скрещивании [12]. Самый надежный путь оценки комбинационной способности селективируемых линий – скрещивание с последующим испытанием гибридного потомства [13].

Прежде чем переходить к оценке эффектов комбинационной способности исследуемых родительских линий подсолнечника необходимо было установить существование достоверных различий между гибридами  $F_1$  по анализируемому признаку [13, 14].

В табл. 1 приведены результаты однофакторного дисперсионного анализа полевой устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* у гибридов  $F_1$  подсолнечника, исследуемых в 2006 г. Данные дисперсионного анализа комбинационной способности указывают на достоверность различий линий по общей комбинационной способности (ОКС) (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Дисперсионный анализ комбинационной способности линий подсолнечника по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* (2006)

Источник варьирования	Сумма квадратов	df	Средние квадраты
Общее	78052,59	221	353,18
Гибриды $F_1$	46767,26	73	640,65**
Повторности	3644,62	2	1822,31
Случайные отклонения	27640,71	146	189,32
ОКС материнских линий	8845,20	20	442,30**
ОКС тестеров	5003,10	12	416,90**
СКС	5883,60	41	143,50*
Случайные отклонения	SS'E	146	63,10

\* Значимо при  $P < 0,05$ .

\*\* При  $P < 0,01$ .

Эффекты общей комбинационной способности и значения дисперсий специфической комбинационной способности (СКС) по анализируемому признаку у материнских (*A*-) и отцовских (тестеров, *Rf*-) линий даны в табл. 2. Высокими значениями ОКС обладали материнские линии M461A, M379A, M204A, M260A, M265A, M271A, M272A, а также линии-восстановители фертильности пыльцы M702Rf и M758Rf. **Все выделенные линии можно использовать в поликроссной селекции для создания синтетической популяции [6, 14], насыщенной желательными генами повышения устойчивости гибридов  $F_1$  к патогену *Sclerotinia sclerotiorum*.**

Т а б л и ц а 2. Эффекты общей комбинационной способности и дисперсии СКС линий подсолнечника по полевой устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* (2006)

Линия	$\hat{g}_i$	$\sigma^2_{si}$	Линия	$\hat{g}_i$	$\sigma^2_{si}$
M284A	-9,6	148,9	M204A	17,4	3,30
M283A	-1,4	74,2	M260A	12,7	-4,10
M461A	8,6	106,7	M261A	2,0	69,50
M279A	-2,2	18,9	M262A	-14,0	559,14
M278A	-6,0	-18,8	M263A	-2,3	21,20
M379A	16,5	22,6	M264A	2,5	24,20
M328A	-4,1	158,9	M265A	6,9	-11,20
M266A	1,6	15,2	M270A	-3,7	90,90
M267A	1,2	135,0	M271A	8,3	9,90
M268A	-13,2	197,5	M272A	11,6	68,40
M269A	-7,9	7,8			
Стандартная ошибка	<b>5,9</b>	<b>8,2</b>	Стандартная ошибка	<b>5,9</b>	<b>8,20</b>
M791Rf	-11,3	82,8	M840Rf	0,9	-5,20
M702Rf	13,6	139,9	M724Rf	-10,4	-24,60
M780Rf	-12,3	78,6	M818Rf	-10,0	41,30
M708Rf	5,2	82,6	M819Rf	3,8	113,80
M737Rf	5,6	71,9	M758Rf	7,0	79,10
M760Rf	-6,5	-12,1	M805Rf	-5,0	-18,50
M839Rf	5,6	-1,2			
Стандартная ошибка	<b>4,8</b>	<b>8,2</b>	Стандартная ошибка	<b>4,8</b>	<b>8,20</b>

Все выделенные по ОКС линии, за исключением M204A и M260A, а также линии M708Rf и M737Rf с положительными эффектами ОКС обладали и высокими значениями дисперсий СКС по анализируемому признаку. Анализ дисперсий СКС выявил линию M262A с очень высоким значением дисперсии. Высокая дисперсия СКС свидетельствует о том, что данная линия в определенном сочетании дает высокоустойчивые гибриды, в силу чего представляет интерес для селекции на гетерозис.

Значения констант СКС исследуемых гибридов  $F_1$  по анализируемому признаку приведены в табл. 3. Константы СКС показывают, насколько та или иная комбинация скрещивания хуже или лучше ожидаемой на основании средней ценности (ОКС) родительских линий [13, 14]. Анализ констант СКС *i*-го и *j*-го родителей выявил 17 лучших гибридных комбинаций.

Все выделенные по величине констант СКС гибриды  $F_1$  подсолнечника селекции ИГиЦ НАН Беларуси были получены с участием как минимум одной родительской линии, характеризующейся либо положительным эффектом ОКС, либо высоким значением дисперсии СКС по анализируемому признаку.

В 2007 г. испытывали 33 новых гибрида  $F_1$  селекции ИГиЦ НАН Беларуси, полученные в системе регулярных тестерных скрещиваний на участке гибридизации в 2006 г. с участием 3 линий-восстановителей фертильности пыльцы и 11 линий-закрепителей стерильности. Гибриды достоверно различались по устойчивости к патогену (табл. 4).

В табл. 4 приведены данные дисперсионного анализа комбинационной способности, которые указывают на достоверность различий тестеров по ОКС.

**Таблица 3. Оценка констант СКС у гибридов F<sub>1</sub> подсолнечника по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* (2006)**

Гибрид	$\hat{s}_{ij}$	Гибрид	$\hat{s}_{ij}$	Гибрид	$\hat{s}_{ij}$	Гибрид	$\hat{s}_{ij}$
1A×1Rf	22,5	5A×5Rf	1,0	10A×4Rf	10,4	14A×8Rf	-7,2
1A×3Rf	-6,5	6A×1Rf	6,4	10A×7Rf	-7,0	14A×12Rf	1,7
1A×6Rf	-1,3	6A×2Rf	-9,5	10A×11Rf	-7,2	14A×13Rf	0,7
1A×10Rf	-1,8	6A×6Rf	4,6	11A×4Rf	22,4	15A×3Rf	-2,7
2A×1Rf	-3,7	6A×9Rf	4,5	11A×7Rf	0,0	15A×4Rf	-6,2
2A×3Rf	14,3	7A×1Rf	3,0	11A×11Rf	-26,2	15A×8Rf	-0,9
2A×9Rf	0,4	7A×5Rf	17,1	12A×3Rf	6,2	15A×11Rf	10,2
3A×1Rf	-7,7	7A×10Rf	-9,3	12A×8Rf	-2,0	16A×4Rf	-9,8
3A×3Rf	5,3	8A×3Rf	9,5	12A×12Rf	-10,1	16A×11Rf	8,6
3A×10Rf	14,0	8A×5Rf	-4,4	12A×13Rf	4,9	17A×3Rf	-21,9
4A×1Rf	-7,9	8A×9Rf	0,6	13A×3Rf	-12,6	17A×4Rf	11,6
4A×2Rf	9,2	8A×10Rf	2,2	13A×8Rf	3,2	17A×8Rf	8,9
4A×5Rf	-2,8	9A×4Rf	-6,3	13A×12Rf	11,1	17A×11Rf	2,0
4A×10Rf	3,8	9A×7Rf	4,3	13A×13Rf	-2,9	18A×3Rf	1,8
5A×1Rf	3,9	9A×11Rf	-1,9	14A×3Rf	4,0	18A×4Rf	-5,7
18A×8Rf	8,6	20A×11Rf	9,5	19A×11Rf	16,5	19A×8Rf	-2,6
18A×11Rf	-4,3	21A×3Rf	15,3	20A×3Rf	-6,4	21A×11Rf	-5,8
19A×3Rf	-4,4	21A×4Rf	-5,2	20A×4Rf	-0,9	20A×8Rf	-1,6
19A×4Rf	-8,9	21A×8Rf	-3,9				
Стандартная ошибка	<b>8,2</b>						

Примечание. ЦМС-аналоги материнских линий: 1A – M284A; 2A – M283A; 3A – M461A; 4A – M279A; 5A – M278A; 6A – M379A; 7A – M328A; 8A – M204A; 9A – M260A; 10A – M261A; 11A – M262A; 12A – M263A; 13A – M264A; 14A – M265A; 15A – M266A; 16A – M267A; 17A – M268A; 18A – M269A; 19A – M270A; 20A – M271A; 21A – M272A. Линии-восстановители фертильности пыльцы: 1Rf – M791Rf; 2Rf – M702Rf; 3Rf – M780Rf; 4Rf – M708Rf; 5Rf – M737Rf; 6Rf – M760Rf; 7Rf – M839Rf; 8Rf – M840Rf; 9Rf – M724Rf; 10Rf – M818Rf; 11Rf – M819Rf; 12Rf – M758Rf; 13Rf – M805Rf.

**Таблица 4. Дисперсионный анализ комбинационной способности линий подсолнечника по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* (2007)**

Источник варьирования	Сумма квадратов	<i>df</i>	Средние квадраты
Общее	3894,84	98	39,74
Гибриды F <sub>1</sub>	1848,21	32	57,76*
Повторности	26,54	2	13,27
Случайные отклонения	2020,10	64	31,56
ОКС материнских линий	160,36	10	16,04
ОКС тестеров	208,98	2	104,49**
СКС	246,73	20	12,34
Случайные отклонения	673,37	64	10,52

\* Значимо при  $P < 0,01$ .

\*\* При  $P < 0,05$ .

Эффекты общей комбинационной способности и значения дисперсий СКС по анализируемому признаку у материнских линий и тестеров даны в табл. 5. Достоверно наиболее высокие эффекты ОКС наблюдались у линии-восстановителя фертильности пыльцы M702Rf. Данную линию можно использовать в поликроссной селекции для создания синтетической популяции [6, 14], насыщенной желательными генами повышения устойчивости гибридов F<sub>1</sub> к патогену *Sclerotinia sclerotiorum*.

Т а б л и ц а 5. Эффекты общей комбинационной способности и варианты СКС линий подсолнечника полевой устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* (2007)

Линия	$\hat{g}_i$	$\sigma^2_{si}$	Линия	$\hat{g}_i$	$\sigma^2_{si}$
M60A	2,32	-0,04	M119A	-0,02	12,12
M379A	-0,30	-6,28	M122A	-0,54	3,83
M81A	-4,62	29,3	M123A	1,90	10,88
M81/2A	1,21	-5,99	Стандартная ошибка	<b>5,99</b>	<b>7,01</b>
M83A	1,77	-2,41			
M87A	-3,96	6,15	M702Rf	3,51	1,04
M606A	1,02	0,34	M791Rf	-2,26	-0,49
M109A	1,22	5,29	M818Rf	1,25	4,99
Стандартная ошибка	<b>5,99</b>	<b>7,01</b>	Стандартная ошибка	<b>2,81</b>	<b>1,91</b>

Наиболее высокие варианты СКС наблюдались у линий M81A (29,3), M119A (12,1) и M123A (10,9). Следовательно, данные линии в определенном сочетании дают высокоустойчивые гибриды, поэтому также представляют интерес для селекции на гетерозис.

Значения констант СКС исследуемых гибридов  $F_1$  по анализируемому признаку приведены в табл. 6. Константы СКС показывают, насколько та или иная комбинация скрещивания хуже или лучше ожидаемой на основании средней ценности (ОКС) родительских линий [13, 14]. Анализ констант СКС  $i$ -го и  $j$ -го родителей выявил 2 лучшие гибридные комбинации (M81A×M702Rf и M123A×M818Rf).

Т а б л и ц а 6. Оценка констант СКС у гибридов  $F_1$  подсолнечника полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* (2007)

Гибрид	$\hat{s}_{ij}$	Гибрид	$\hat{s}_{ij}$	Гибрид	$\hat{s}_{ij}$
M60A×M702Rf	-2,5	M81/2A×M818Rf	0,2	M109A×M791Rf	-0,4
M60A×M791Rf	-0,1	M83A×M702Rf	-1,7	M109A×M818Rf	3,6
M60A×M818Rf	2,6	M83A×M791Rf	2,2	M119A×M702Rf	1,7
M379A×M702Rf	0,4	M83A×M818Rf	-0,5	M119A×M791Rf	-4,9
M379A×M791Rf	-0,2	M87A×M702Rf	4,0	M119A×M818Rf	3,2
M379A×M818Rf	-0,2	M87A×M791Rf	-2,7	M122A×M702Rf	0,6
M81A×M702Rf	4,7	M87A×M818Rf	-1,3	M122A×M791Rf	2,9
M81A×M791Rf	2,1	M606A×M702Rf	-0,9	M122A×M818Rf	-3,5
M81A×M818Rf	-6,7	M606A×M791Rf	2,9	M123A×M702Rf	-3,5
M81/2A×M702Rf	0,5	M606A×M818Rf	-2,0	M123A×M791Rf	-1,1
M81/2A×M791Rf	-0,7	M109A×M702Rf	-3,2	M123A×M818Rf	4,6
Стандартная ошибка	<b>11,1</b>	Стандартная ошибка	<b>11,1</b>	Стандартная ошибка	<b>11,1</b>

Все выделенные по величине констант СКС гибриды  $F_1$  подсолнечника селекции ИГиЦ НАН Беларуси были получены с участием как минимум одной родительской линии, характеризующейся либо положительным эффектом ОКС, либо высоким значением варианты СКС по анализируемому признаку.

В селекционном отношении наиболее ценными являются линии, стабильно наследующие высокую, положительную ОКС в различающиеся по погодным условиям годы. На рисунке схематически представлены эффекты ОКС четырех линий селекции ИГиЦ НАН Беларуси (M818Rf, M702Rf, M791Rf, M379A), испытываемых в 2006 и 2007 гг.

Данные указывают на то, что линия M702Rf стабильно характеризуется положительными, а линия M791Rf – отрицательными эффектами ОКС по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* в различающиеся по погодным условиям годы. У линий M818Rf и M379A эффекты ОКС были выражены с противоположными знаками, что существенно уменьшает возможности прогнозирования устойчивости гибридов, полученных с участием этих линий, но не является свидетельством низкой селекционной ценности этих линий.

**Заклучение.** Анализ комбинационной способности линий подсолнечника по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* выявил их высокую генетическую разнородность.

В системе нерегулярных тестерных скрещиваний в 2006 г. изучен потенциал генетической изменчивости 34 линий подсолнечника. В ходе анализа выявлены 7 материнских линий и 2 отцовских линии-восстановителя фертильности пыльцы с высокими положительными эффектами ОКС по исследуемому признаку.

В системе регулярных тестерных скрещиваний в 2007 г. изучен потенциал генетической изменчивости 14 линий подсолнечника. В ходе анализа выявлена линия-восстановитель фертильности пыльцы M702Rf с высокими положительными эффектами ОКС по исследуемому признаку.

Выделенные по ОКС линии предлагается использовать как для повышения концентрации желательных генов путем создания синтетической популяции в процессе поликроссной селекции, так и для получения гибридов  $F_1$  с повышенной устойчивостью к патогену *Sclerotinia sclerotiorum*.

На основании результатов испытания комбинационной способности 4 линий подсолнечника в разных тестерных схемах скрещиваний в различающиеся по погодным условиям годы можно заключить, что линия-восстановитель фертильности пыльцы M702Rf является **гарантированным** донором генов устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* и может использоваться для получения устойчивых к патогену гибридов  $F_1$ .

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по гранту Б06М-022 (№ 20063888).

## Литература

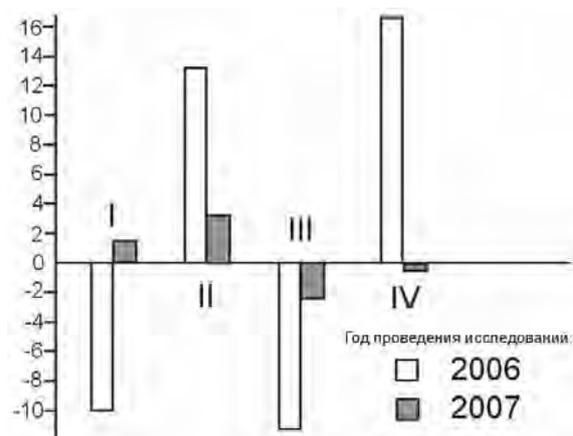
1. Антонова Т. С. // История научных исследований во ВНИИМКе. Краснодар, 2003. С. 253–272.
2. Кильчевский А. В., Хотылева Л. В. Экологическая селекция растений. Мн., 1997.
3. Савченко В. К. Генетический анализ в сетевых пробных скрещиваниях. Мн., 1984.
4. Турбин Н. В., Хотылева Л. В., Каминская Л. Н. // Гетерозис. Мн., 1982. С. 39–61.
5. Волотович А. А. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2005. № 4. С. 112–116.
6. Тихонов О. И., Бочкарев Н. И., Дьяков А. Б. Биология, селекция и возделывание подсолнечника. М., 1991.
7. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. Мн., 1985.
8. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Мн., 1973.
9. Боровиков В. П. STATISTICA: Искусство анализа данных на компьютере. СПб., 2001.
10. Kempthorne O. An Introduction to Genetics Statistics. N.-Y., 1957.
11. Дремлюк Г. К., Герасименко В. Ф. Приемы анализа комбинационной способности и ЭВМ-программы для нерегулярных скрещиваний. М., 1991.
12. Green J. M. // J. Amer. Soc. Agron. 1948. Vol. 40. P. 58–63.
13. Турбин Н. В., Хотылева Л. В. // Гетерозис. Мн., 1961. С. 59–110.
14. Хотылева Л. В., Савченко А. П. Генетика люпина. Мн., 1988.

A. A. VOLOTOVICH, T. A. SILKOVA, N. S. FOMCHENKO

## ESTIMATION OF COMBINING ABILITY OF SUNFLOWER LINES ON FIELD RESISTANCE TO SCLEROTINIA SCLEROTIORUM

### Summary

The analysis of combining ability of 44 sunflower lines of IG&C NAS Belarus breeding in different test-cross schemes has revealed 9 lines with high effects of general combining ability on field resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* pathogen. During the analysis it has revealed the pollen fertility restorer M702Rf, which can be used as the guaranteed donor of genes of resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* at creation of hybrids  $F_1$ .



Линии: I – M818Rf; II – M702Rf; III – M791Rf; IV – M379A  
Повторяемость эффектов ОКС (g) по полевой устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* у линий подсолнечника селекции ИГиЦ НАН Беларуси в различающиеся по погодным условиям годы