

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

**ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
"ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ"**

УДК 633.854.78:631.527.5(476)

ВОЛОТОВИЧ
Антон Анатольевич

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СОЗДАНЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ
ЛИНИЙ ПОДСОЛНЕЧНИКА *HELIANTHUS ANNUUS L.*,
И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ГЕТЕРОЗИСНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.00.15. – генетика

Минск, 2007

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

Работа выполнена в Государственном научном учреждении
«Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси»

Научный руководитель: **Давыденко Олег Георгиевич**
доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, заведующий лабораторией нехромосомной наследственности ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Официальные оппоненты: **Гордей Иван Андреевич**
доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией хромосомной инженерии растений ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Пилук Ядвига Эдвардовна
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующая лабораторией селекции и технологии возделывания крестоцветных культур РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

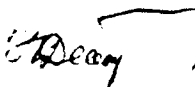
Оппонирующая организация: УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», г. Горки

Защита состоится «17» июля 2007 г. в 10⁰⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.31.01 при ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» по адресу: 220072 г. Минск, ул. Академическая, 27. Тел. (+375 17) 284-19-45, факс 284-19-17, e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Института генетики и цитологии НАН Беларуси»

Автореферат разослан «16» июня 2007 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат биологических наук



Дубовец Н.И.

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами.

Диссертационная работа выполнена в рамках плановых научно-исследовательских тем "Гетерозис и ЦМС у подсолнечника" (2000-2004 гг., № госрегистрации 20001826) и "Молекулярное маркирование геномов клетки для создания высокопродуктивных и адаптивных форм сельскохозяйственных культур" (2004-2005 гг., № госрегистрации 20041022); а также при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований по грантам "Гетерозис простых межлинейных гибридов и генетические свойства линий подсолнечника масличного" (2004 г, № госрегистрации 20044101) и "Оценка устойчивости линий и гибридов подсолнечника масличного (*Helianthus annuus* L.) белорусской селекции к фитопатогену *Sclerotinia sclerotiorum*" (2006-2008 гг., № госрегистрации 20063888).

Диссертация соответствует приоритетным направлениям фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь, отраженным в п.3.8. «Геномика растений и животных, исследование генетических, физиологических и биохимических механизмов формирования их продуктивности и устойчивости» и п.5.7. «Селекция конкурентоспособных сортов и гибридов сельскохозяйственных растений и пород животных» постановления Совета Министров РБ № 512 от 17 мая 2005 г.

Цель и задачи исследования. Основная цель работы: изучить генетическую изменчивость основных хозяйственно ценных признаков среди созданных в Республике Беларусь линий подсолнечника *Helianthus annuus* L., а также возможности реализации генетического потенциала созданных линий в продуктивности их гибридов F_1 на основе ЦМС.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- создать рабочую коллекцию линий-закрепителей стерильности пыльцы, их стерильных аналогов и линий-восстановителей фертильности пыльцы подсолнечника в почвенно-климатических условиях Беларуси;
- изучить генетическую изменчивость среди созданных линий методами биометрического и молекулярного (RAPD-) анализа;
- оценить комбинационную способность созданных линий в системе тестерных скрещиваний и выделить лучшие из них для включения в гетерозисные комбинации;
- изучить эффекты гетерозиса и характер наследования основных хозяйственно ценных признаков у гибридов F_1 , а также установить долю вклада аддитивных и неаддитивных генетических эффектов действия генов исходных родительских линий в контроль развития признаков у гибридов F_1 ;
- выявить генотипические различия по степени восприимчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* у созданных линий подсолнечника и их гибридов F_1 ;

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

- выявить лучшие, конкурентоспособные гибриды F_1 подсолнечника белорусской селекции, адаптированные к почвенно-климатическим условиям Республики Беларусь.

Положения, выносимые на защиту:

1. С помощью биометрического и молекулярного анализа установлен высокий уровень генетической изменчивости хозяйственно ценных признаков среди линий подсолнечника масличного *Helianthus annuus* L., впервые созданных в почвенно-климатических условиях Республики Беларусь, что является основой эффективного, направленного отбора линий для создания продуктивных и конкурентоспособных гибридов F_1 .
2. Установлены высокие эффекты гетерозиса по основным хозяйственно ценным признакам у гибридов F_1 подсолнечника белорусской селекции.
3. Созданы простые межлинейные гибриды F_1 подсолнечника с потенциальной урожайностью семян 25,0-30,0 ц/га, сбором масла 10,0-15,0 ц/га и масличностью семян на уровне 50,0-54,0%, обладающие высокой адаптивностью к местным почвенно-климатическим условиям.
4. Создан и передан в Государственное сортоиспытание первый высокопродуктивный, отечественный, простой межлинейный гибрид подсолнечника F_1 Поиск.

Личный вклад соискателя. Основные результаты исследований, представленные в диссертационной работе, получены непосредственно автором в лаборатории нехромосомной наследственности ИГиЦ НАН Беларуси. В проведении полевых экспериментов и учете показателей продуктивности растений принимали участие ведущий научный сотрудник Т.А. Силкова, старший научный сотрудник Н.С. Фомченко и лаборант О.В. Прохоренко. Изучение полиморфизма ДНК линий методом RAPD-анализа осуществлялось при участии старшего научного сотрудника Е.А. Аксеновой. Соискатель является соавтором первого отечественного гибрида подсолнечника F_1 Поиск.

Апробация результатов диссертации. Материалы работы представлены на международных научно-практических конференциях "Адаптивная селекция растений: теория и практика" (Харьков, 2002) и "Принципы и методы оптимизации селекционного процесса сельскохозяйственных культур" (Жодио, 2005), на III съезде ВОГИС "Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития" (Москва, 2004), на 3-й и 4-й международных конференциях молодых ученых и специалистов "Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур" (Краснодар, 2005, 2007).

Опубликованность результатов диссертации. Основные результаты исследований опубликованы в 12 статьях в научных журналах и сборниках (в том числе 5 статей без соавторов), 2 тезисах докладов международных научных

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

конференций. В частности, опубликовано 5 статей по теме диссертации, соответствующих пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь. Общее количество страниц опубликованных материалов составляет 60. Общее количество печатных листов в статьях, опубликованных в изданиях Перечня ВАК – 1,71.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 114 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6-ти глав, заключения и библиографического списка, представленного списком использованных источников, который включает 244 наименования (в том числе 148 иностранных) и списком публикаций соискателя, который включает 14 наименований. Экспериментальный материал представлен в 40 таблицах и на 18 рисунках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В качестве исходного материала для селекции линий подсолнечника в почвенно-климатических условиях Беларуси использовали лучшие по продуктивности и по устойчивости к болезням гибриды F_1 и сорта зарубежной селекции, испытанные на биологической опытной станции ИГиЦ НАНБ (Минский район) за период 1998-2000 гг; а также новые межсортные, линейно-сортные и межлинейные гибриды, полученные нами от скрещивания лучших форм из числа испытанных. Селекцию линий (путем принудительного самоопыления), отбор генотипов с доминантными и рецессивными аллелями ядерного гена восстановления фертильности пыльцы, перевод линий-закрепителей на стерильную цитоплазму, выбраковку инцухт-поколений по комплексу нежелательных признаков, расчет величин основных показателей продуктивности осуществляли по методикам ВНИИМК им. В.С. Пустовойта (Тихонов и др., 1991). Масличность семян определяли в 2005 и 2006 гг на ЯМР-анализаторе АМВ-1006М (ВНИИМК им. В.С. Пустовойта), в 2003 и 2004 гг – методом экстракции этиловым эфиром в аппарате Сокслета по ГОСТ 10857-64 (Витебский маслоэкстракционный завод).

Материал созданной рабочей коллекции в 2006 году дифференцирован по степени устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* экспресс-методом инокуляции 5-7 дневных проростков гомогенатом мицелия патогена и культуральной жидкости, согласно методикам УНИИ растениеводства, селекции и генетики им. В.Я. Юрьева (Долгова и др., 1989; Лесовой и др., 1987).

В настоящей работе основными объектами исследования являлись:

– 29 стерильных аналогов линий-закрепителей стерильности пыльцы и 15 линий-восстановителей фертильности пыльцы подсолнечника, селекции лаборатории нехромосомной наследственности ИГиЦ НАН Беларуси, а также

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах

1. **Волотович А.А.** Комбинационная способность и гетерозис у подсолнечника *Helianthus annuus* L. / **А.А. Волотович**, Т.А. Силкова, Н.С. Фомченко, О.В. Прохоренко, Ф.И. Горбаченко, О.Г. Давыденко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2005. – № 2. – С. 47–50.
2. **Волотович А.А.** Оценка перспективности новых гибридных комбинаций масличного подсолнечника / **А.А. Волотович** // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2005. – № 3. – С. 118–120.
3. **Волотович А.А.** Защита растений от патогена *Sclerotinia sclerotiorum* / **А.А. Волотович** // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2005. – № 4. – С. 112–116.
4. **Волотович А.А.** Анализ наследования основных хозяйственно ценных признаков у гибридов F_1 подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) белорусской селекции / **А.А. Волотович** // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2006. – № 4. – С. 64–68.
5. Давыденко О.Г. Комбинационная способность линий масличного подсолнечника / О.Г. Давыденко, Т.А. Силкова, Ф.И. Горбаченко, Н.С. Фомченко, **А.А. Волотович** // Доклады Нац. акад. наук Беларуси. – 2003. – Т. 43, № 6. – С. 71–73.

Статьи в сборниках материалов конференций

6. Аксенова Е.А. RAPD анализ инбредных линий подсолнечника и гибридов F_1 как один из путей оптимизации селекционного процесса / Е.А. Аксенова, **А.А. Волотович**, Т.А. Силкова, О.Г. Давыденко // Принципы и методы оптимизации селекционного процесса сельскохозяйственных растений: сб. статей междунар. науч.-практ. конф. – Жодино, 2005. – С. 170–174.
7. **Волотович А.А.** Эффекты комбинационной способности и гетерозиса у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) / **А.А. Волотович**, О.В. Прохоренко // Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур: сб. статей 3-й междунар. конф. молодых ученых и специалистов. – Краснодар, 2005. – С. 3–8.
8. **Волотович А.А.** Оценка комбинационной способности линий подсолнечника масличного белорусской селекции / **А.А. Волотович**, Т.А. Силкова, Н.С. Фомченко, О.В. Прохоренко, Ф.И. Горбаченко, О.Г. Давыденко // Актуальные проблемы генетики, биотехнологии и селекции: сб. статей междунар. науч. конф. – Кишинев, 2005. – С. 326–330.
9. **Волотович А.А.** Защита подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) от фитопатогена *Sclerotinia sclerotiorum* с использованием бактериальных штаммов / **А.А. Волотович**, И.И. Феклистова // Актуальные проблемы

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

изучения фито- и микобиоты: сб. статей междунар. науч.-практ. конф. – Минск, 2004. – С. 136–138.

10. **Волотович А.А.** Дифференциация линий подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) белорусской селекции по степени устойчивости к патогену *Sclerotinia sclerotiorum* / **А.А. Волотович** // Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур: сб. статей 4-й междунар. конф. молодых ученых и специалистов. – Краснодар, 2007. – С. 46–51.
11. **Волотович А.А.** Генетический потенциал линий подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) белорусской селекции / **А.А. Волотович** // Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур: сб. статей 4-й междунар. конф. молодых ученых и специалистов. – Краснодар, 2007. – С. 52–57.
12. Силкова Т.А. Результаты и перспективы гетерозисной селекции подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) в Республике Беларусь / Т.А. Силкова, **А.А. Волотович**, Н.С. Фомченко, О.В. Прохоренко, О.Г. Давыденко // Принципы и методы оптимизации селекционного процесса сельскохозяйственных растений: сб. статей междунар. науч.-практ. конф. – Жодино, 2005. – С. 164–169.

Тезисы докладов научных конференций

13. Силкова Т.А. Продуктивность сортов и гибридов F_1 подсолнечника, выращенных в условиях Беларуси / Т.А. Силкова, Н.С. Фомченко, **А.А. Волотович**, Ф.И. Горбаченко, О.Г. Давыденко // Адаптивная селекция растений: теория и практика: сб. тезисов междунар. науч. конф. – Харьков, 2002. – С. 63–64.
14. Силкова Т.А. Комбинационная способность материнских линий масличного подсолнечника белорусской селекции / Т.А. Силкова, Н.С. Фомченко, **А.А. Волотович**, О.В. Прохоренко, Ф.И. Горбаченко, О.Г. Давыденко // Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития: сб. тезисов III съезда ВОГИС. – Москва, 2004. – Т. 1. – С. 124.

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

РЭЗЮМЭ

Валатовіч Антон Анатольевіч

Генетычны аналіз створаных у Рэспубліке Беларусь ліній сланечніку
Helianthus annuus L., і іх скарыстанне ў гетэрозіснай селекцыі

Ключавыя словы: сланечнік (*Helianthus annuus* L.), самаапыленныя лініі, генетычная зменлівасць, камбінацыйная здатнасць, генетычны патэнцыял, гібрыды F_1 , гетэрозіс, RAPD-аналіз, селекцыя.

Мэта працы. Дысертацыйная праца прысвечана аналізу генетычнай зменлівасці галоўных гаспадарча-значных адзнакаў паміж 44 ліній сланечніку *Helianthus annuus* L., упершыню створаных ва ўмовах Беларусі, а таксама аналізу магчымасці рэалізацыі генетычнага патэнцыялу створаных ліній у прадуктыўнасці іх 116 гібрыдаў F_1 на аснове ЦМС.

Метады даследавання. Селекцыю ліній праводзілі на метадах УНДІАК імя В.С. Пуставойга. Дыферэнцыяцыю ліній па ступені ўстойлівасці да *Sclerotinia sclerotiorum* ажыццяўлялі на метадах УНДІРСГ імя В.Я. Юр'ева. Генетычную зменлівасць паміж ліній вывучалі на метадах біяметрычнага і малекулярнага (RAPD-) аналізу. Аналіз камбінацыйнай здатнасці ў сістэме тэстэрных скржаванняў без рэцыпракаў і агульны матэматычны аналіз дадзеных праводзілі па агульнапрынятых метадах (і формулах) класічнай генетыкі, пры выкарыстоўванні праграм AB-Stat 1.1 і STATISTICA 6.0.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Пры данамозе малекулярнага і біяметрычнага аналізу ўстаноўлены высокі ўзровень генетычнай зменлівасці вывучаных ліній сланечніку. Выяўлена 12 ліній з высокімі дадатнымі эфектамі АКЗ і 3 лініі з высокімі варыяцыямі СКЗ на аналізуемым гаспадарча-значным адзнакам. Устаноўлены заканамернасці наследавання адзнакаў у гібрыдаў F_1 , а таксама пераважанне аддытальных або неаддытальных генетычных эфектаў зыходных бацькоўскіх ліній у кантроле адзнакаў у гібрыдаў F_1 . Выяўлены 12 лепшых гібрыдаў F_1 беларускай селекцыі з патэнцыяльнай ураджайнасцю 25,0-30,0 ц/га, зборам алею 10,0-15,0 ц/га і алейнасцю насення на узроўні 50,0-54,0%, якія маюць высокія эфекты гетэрозісу па аналізуемым адзнакам. У Камітэт Дзяржаўнага сортавыпрабавання Рэспублікі Беларусь перададзены першы айчыны гібрыд F_1 Пошук.

Ступень выкарыстання. Генетычны патэнцыял створанай калекцыі каштоўных ліній сланечніку часткова вывучаны, і рэкамендавана шырокае яго выкарыстоўванне дзеля атрымання прадуктыўных, канкурэнтаздольных гібрыдаў F_1 , адаптаваных да глебава-кліматычных умоў Рэспублікі Беларусь.

Галіна прымянення – генетыка, селекцыя раслін, сельская гаспадарка.

(ОЗНАКОМИТЕЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ)

РЕЗЮМЕ

Волотович Антон Анатольевич

Генетический анализ созданных в Республике Беларусь линий подсолнечника *Helianthus annuus* L., и их использование в гетерозисной селекции

Ключевые слова: подсолнечник (*Helianthus annuus* L.), самоопыленные линии, генетическая изменчивость, комбинационная способность, генетический потенциал, гибриды F_1 , гетерозис, RAPD-анализ, селекция.

Цель работы. Диссертационная работа посвящена анализу генетической изменчивости основных хозяйственно ценных признаков среди 44 линий подсолнечника *Helianthus annuus* L., впервые созданных в условиях Беларуси, а также анализу возможности реализации генетического потенциала созданных линий в продуктивности их 116 гибридов F_1 на основе ЦМС.

Методы исследования. Селекцию линий проводили по методам ВНИИМК им. В.С. Пустовойта. Дифференциацию линий по степени устойчивости к *Sclerotinia sclerotiorum* осуществляли по методам УНИИ растениеводства, селекции и генетики им. В.Я. Юрьева. Генетическую изменчивость среди линий изучали методами биометрического и молекулярного (RAPD-) анализа. Анализ комбинационной способности в системе тестерных скрещиваний без реципроков и общий математический анализ данных проводили по общепринятым методам (и формулам) классической генетики, с использованием программ AB-Stat 1.1 и STATISTICA 6.0.

Полученные результаты и их новизна. С помощью молекулярного и биометрического анализа установлен высокий уровень генетической изменчивости среди изученных линий подсолнечника. Выявлено 12 линий с высокими положительными эффектами ОКС и 3 линии с высокими вариансами СКС по анализируемым хозяйственно ценным признакам. Установлены закономерности наследования признаков у гибридов F_1 , а также преобладание аддитивных или неаддитивных генетических эффектов исходных родительских линий в контроле признаков у гибридов F_1 . Выделены 12 лучших гибридов F_1 белорусской селекции с потенциальной урожайностью 25,0-30,0 ц/га, сбором масла 10,0-15,0 ц/га и масличностью семян на уровне 50,0-54,0%, обладающих высокими эффектами гетерозиса по анализируемым признакам. В Комитет Государственного сортоиспытания Республики Беларусь передан первый отечественный гибрид F_1 Поиск.

Степень использования. Генетический потенциал созданной коллекции ценных линий подсолнечника частично изучен, и рекомендуется широкое его использование для получения продуктивных, конкурентоспособных, высокогетерозисных гибридов F_1 , адаптированных к условиям Республики Беларусь.

Область применения – генетика, селекция растений, сельское хозяйство.

SUMMARY

Volotovich Anton Anatolievich

Genetic analysis of inbred lines of sunflower *Helianthus annuus* L., created under conditions of the Republic of Belarus, and the use of this lines in heterosis breeding

Key words: sunflower (*Helianthus annuus* L.), inbred lines, genetic variability, combining ability, genetic potential, hybrids F_1 , heterosis, RAPD-analysis, breeding.

Aim of work. Dissertation is about as the genetic variability of main economically important traits of 44 lines of sunflower *Helianthus annuus* L., firstly created under conditions of Belarus, as the analysis of the possibility of realization of genetic potential of lines in production of their 116 F_1 hybrids, based on CMS.

Research methods. The lines breeding has been accomplished by the methods of VNIIMK (Krasnodar, Russia). Lines differentiation by extent of stability to *Sclerotinia sclerotiorum* was accomplished by the methods of NIIRSG (Kharkov, Ukraine). Genetic variability between lines has been investigated by the methods of biometrics and molecular (RAPD-) analysis. Analysis of combining ability by "topcross" and mathematical analysis of data were realized by the methods (and formulas) of classic genetics with the use of AB-Stat 1.1 and STATISTICA 6.0 programs.

Obtained results and their novelty. High level of the the genetic polymorphism between examined lines was determined by the molecular and biometrics methods of analysis. It was revealed 12 lines with the high, positive GCA effects, and 3 lines with high variances of SCA by the main economically important traits analyzed. It was established the regularities of traits inheritance in F_1 hybrids, as well as prevalence of additive-nonadditive genetic effects of parental lines in control of traits of F_1 hybrids. It was revealed the 12 better F_1 hybrids of Byelorussian breeding with potential seed productivity of 25-30 c/ha, oil productivity of 10-15 c/ha, seed oil content at the level of 50-54%, with high heterosis effects by analyzed traits. The first Byelorussian F_1 hybrid "Poisk" was submitted to test at State Committee of New Sorts Trial of the Republic of Belarus.

Degree of application. The genetic potential of created under soil-climatic conditions of Belarus sunflower lines has partially studied and can be used in high productive and competitive F_1 hybrids getting.

Area of application – genetics, plant breeding, agriculture.



Подписано в печать 13.06.2007. Формат 60x84_{1/16}. Бумага офсетная. Гарнитур Roman.

Печать цифровая. Усл.печл. 1,3. Уч.издл. 1,4. Тираж 60 экз. Заказ № 381.

ИООО «Право и экономика» Лицензия № 02330/0056831 от 01.04.2004.

220072 Минск Сурганова 1, корп. 2. Тел. 284 18 66. 8 029 684 18 66.

Отпечатано на настольно-издательской системе XEROX в ИООО «Право и экономика».