

УДК 633.854.78:631.52

НОВЫЙ СПОСОБ КАСТРАЦИИ ЦВЕТКОВ КОРЗИНОК ПОДСОЛНЕЧНИКА

Тронин А.С.¹, Пихтярёва А.А.², Каменева Н.В.²

¹ 352925, г. Армавир, пос. ВНИИМК
АОС-филиал ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК,
aleksandr.tronin@gmail.ru

² 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д.17
ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК,

В полевых условиях установлено, что использование водной кастрации растений подсолнечника с использованием электрического опрыскивателя весьма эффективно. Количество завязавшихся семян при таком методе сравнимо с самоопыленным контролем и достаточно для дальнейшей селекционно-генетической работы; при этом временные затраты значительно снижаются. В особенности данный способ применим при большом объёме кастрируемых растений.

Ключевые слова: подсолнечник, метод кастрации растений, пыльник

Введение. В селекции сельскохозяйственных культур, одним из основополагающих методов работы является получение гибридных комбинаций между интересующими селекционера формами культурных растений. У культур, имеющих обоеполые цветки в соцветии, гибридизации предшествует кастрация (или эмаскуляция, т.е. удаление мужского гаметофита) одной из форм. С другой же формы собирается пыльца для нанесения на рыльца пестиков первой. Наибольшее время и трудозатраты приходятся именно на процесс кастрации цветков. Поэтому селекционеры применяют множество различных методик кастрации в зависимости от культуры и биологии её цветения.

Так, например, А.Н. Боровик на растениях пшеницы применяет термическую кастрацию: погружение колосьев в воду с температурой 48 °С со временем экспозиции 2 минуты. Это, по мнению автора, увеличивает производительность труда и количество получаемых гибридных семян [1]. В селекции и других культур [2] широко используется водная кастрация, т.е. механический смыв пыльцевых зёрен с женского гаметофита.

В селекции подсолнечника, по данным Волгина В.В. и Обыдало А.Д. [3, 4], при исследовании линий-закрепителей пыльцы, наиболее эффективными способами кастрации цветков подсолнечника является ручная эмаскуляция пинцетом и обработка корзинок раствором гиббереллина (94-100%). Использование влажной камеры также эффективно (94-99%), однако количество завязавшихся семян на корзинку в последнем случае снижается в 3-4 раза.

Весьма экзотический способ кастрации растений подсолнечника – фотопериодическая мужская стерильность, был открыт в 2003 г. сотрудниками лаборатории генетики ВНИИМК [5]. При воздействии 24-часового фотопериода в фазе цветения корзинки у растений подсолнечника наблюдалось отсутствие выхода пыльников из венчика трубчатых цветков за счёт отсутствия роста тычиночных нитей. Уровень выхода стерильных растений и степень гибридности составляет при таком методе 100%, однако, применение его возможно исключительно только в камерах искусственного климата.

Демуриным Я.Н. с соавторами [6] отмечено, что имидазолиноновые гербициды обладают гаметоцидным действием на гетерозиготные по гену устойчивости *Imr* растения. Обработка растений таким гербицидом в фазе закладки генеративных органов во время бутонизации (т.н. фаза «звёздочки») позволяет получать мужски стерильные растения, которые могут быть использованы в качестве материнской формы при гибридизации, но такой метод применим только при создании гербицидоустойчивых форм подсолнечника.

Очевидно, что при гибридизации подсолнечника требуется более универсальный, производительный и менее трудоёмкий способ кастрации, позволяющий применять его в различных погодных-климатических условиях и более позднее (нежели ручная кастрация пинцетом) утреннее время. На наш взгляд, водная кастрация цветков вполне применима на подсолнечнике, однако, следует повысить надёжность гибридизации.

В связи с этим, целью исследований является разработка новой методики водной кастрации путём удаления пыльников водным потоком под давлением с учётом биологии цветения трубчатых цветков.

У подсолнечника *Helianthus annuus L.*, как и у большинства сложноцветных, наблюдается проандрия. Пыльники раскрываются ещё в бутоне, и пыльца оказывается внутри пыльниковой трубки еще до раскрытия цветков [7]. На этой мужской фазе развития цветка столбик ещё короткий и лопасти рыльца ещё плотно сомкнуты; к моменту раскрытия цветка столбик удлиняется и постепенно, подобно поршню в цилиндре, выталкивает пыльцу. Затем лопасти столбика выставляются из венчика и сильно расходятся. С внутренней стороны лопасти рыльца снабжены особой воспринимающей (рыльцевой) тканью с волосками, способствующими удалению пыльцы из пыльниковой трубки.

Материалы и методы. В эксперименте использовались три линии из генфонда инбредных линий подсолнечника лаборатории генетики. Линия-закрепитель стерильности ВК 680 сур Б, участвующая в эксперименте, является аналогом селекционной линии, устойчивым к сульфонилмочевинным гербицидам. Линия ЭОЛ-2 – перспективная линия-восстановитель фертильности из рабочей коллекции лаборатории, а также ЛГ 26 – линия генетической коллекции, несущая маркерный признак – антоциановый гипокотиль проростка.

Кастрации подвергались линии ВК 680 сур Б и ЭОЛ-2. Пыльца линии ЛГ 26 наносилась на кастрированные различными способами корзинки растений подсолнечника.

Эксперимент проводился на селекционном поле Центральной экспериментальной базы ВНИИМК в 2017-2018 гг. Для опыта использовались пинцет, ручной пульверизатор и ранцевый электрический опрыскиватель аккумуляторного типа.

Эффективность способов кастрации растений подсолнечника оценивалась по количеству выполненных семян с корзинки. Процент гибридных семян планировалось оценить путём оценки F_1 по наличию пигмента антоциана в гипокотиле проростков.

Кастрация растений проводилась различными способами. Традиционный способ удаления пыльников растений с помощью пинцета применялся в ранние утренние часы (с 6 до 9 ч), когда рыльца пестиков ещё не выходят на поверхность.

Смывание пыльцы с помощью ручного пульверизатора проводили в более поздние утренние часы (начиная с 9-10 часов утра, в зависимости от температуры воздуха), когда большая часть пыльцы находилась на поверхности пыльника, но усики рыльца пестика ещё не открыты.

Также, в одном из вариантов эксперимента, использовался переносной ранцевый электрический опрыскиватель со встроенным аккумулятором COMFORT ОЭ-15 с щелевой распыляющей форсункой. Обработка растений водой под давлением 0,6 МПа из электрического ранцевого опрыскивателя проводилась в то же время, что и смывание ручным пульверизатором.

Самоопыление корзинок проводили путём равномерного распределения собственной пыльцы растения по поверхности рылец пестиков листочками обёртки.

Вариант опыления корзинок смесью пыльцы осуществлялся нанесением пыльцы инбредной линии с маркерным признаком на рыльца пестиков без предварительной кастрации срединных цветков, но частичным механическим удалением собственной пыльцы растения.

Для выявления процента гибридных семян в вариантах опыта, семена подсолнечника проращивались в рулонах фильтровальной бумаги в термостате при оптимальной температуре по методике определения всхожести семян. Также для этих целей использовался посев семян в пластиковых коробах и дальнейший анализ всходов в условиях теплицы.

Результаты и обсуждение. Принцип кастрации растений подсолнечника с помощью электрического опрыскивателя заключается в смывании не только пыльцы (как в случае с ручным пульверизатором), но и самих пыльников с оставшейся в них пыльцой под давлением распыляемой воды. Таким образом, затраты времени на кастрацию одной корзинки подсолнечника сокращаются до 2-3 минут.

Для достоверной проверки гибридности получаемых семян при гибридизации, необходимо, чтобы материнская форма обладала качественным рецессивным признаком, а отцовская – доминантным. Таковым качественным признаком у подсолнечника является окраска гипокотили проростков растений. У линий ВК680 сур и ЭОЛ-2 окраска гипокотили зелёная, в то время как у линии ЛГ 26, являющейся в эксперименте донором пыльцы, гипокотиль тёмного цвета из-за присутствия в клетках пигмента антоциана. Антоциановый гипокотиль является доминантным признаком и хорошо дифференцируется на растениях F_1 .

Результаты анализа проростков, полученных по методике определения всхожести семян, показал невозможность достоверного анализа гибридности семян по признаку антоциановой окраски гипокотили. Авторы предполагают, что возможно это связано с тем, что вышеупомянутый пигмент активно синтезируется только лишь при воздействии солнечных лучей, а семена, проращиваемые в рулонах фильтровальной бумаги, выращивались в термостате без досветки.

В связи с этим семена вариантов опыта были высеяны в пластиковые короба, и всходы семян происходили уже в условиях теплицы под лампами искусственного освещения с оптимальными для подсолнечника фотопериодом и температурой. Антоциановая окраска гипокотили в этих условиях проявилась у проростков достаточно хорошо. Однако, степень её проявления на некоторых генотипах была неравномерна, что не соответствовало ожидаемым результатам, и мешало бы правильной оценке результатов опыта (рис.).



1



2

Рисунок – Проращивание семян F_1 в пластиковых коробах в условиях теплицы

1-общий вид короба с проростками ВК680 сур Б × ЛГ26;

2 – проростки подсолнечника в варианте с использованием ранцевого опрыскивателя

Как известно, признак антоцианового гипокотилия обусловлен наличием в генотипе доминантного гена, и в поколении F_1 должен проявляться у всех проростков в полной мере. Различия в степени проявления признака, по-видимому, могут быть связаны с иной генетической средой исследуемых линий, т.к. ВК680 и ЭОЛ-2 по признаку наследования антоцианового гипокотилия ранее не изучались.

Поэтому достоверные выводы о гибридности полученных семян планируются получить, посеяв семена в полевых условиях 2019 года с последующим анализом антоциановости гипокотилия в поколении F_1 , а также визуального анализа габитуса растений.

Количество выполненных семян с корзинки оказалось более 100 во всех вариантах эксперимента и сопоставимо с таковым в контроле (табл.). Следует отметить, что при кастрации с использованием ранцевого опрыскивателя среднее число выполненных семян за два года у линии-закрепителя стерильности составило 120 шт./растение, а у линии-восстановителя фертильности – 658 шт./растение. Такого объема семян обычно вполне достаточно исследователю для дальнейшей генетической или селекционной работы с материалом.

Таблица – Количество семян с корзинки, полученных при различных методах кастрации материнского растения

Краснодар, ЦЭБ ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК, 2017-1018 гг.

| | Вариант опыта | Кол-во семян с корзинки, шт. |
|----|--|------------------------------|
| 1 | ВК 680 сур Б × ЛГ 26 (без кастрации, опыление смесью пыльцы) | 414 |
| 2 | ВК 680 сур Б × ЛГ 26 (пульверизатор) | 131 |
| 3 | ВК 680 сур Б × ЛГ 26 (опрыскиватель) | 120 |
| 4 | ВК 680 сур Б × ЛГ 26 (ручная кастрация пинцетом) | 366 |
| 5 | ВК 680 сур Б (самоопыление) | 407 |
| | НСР ₀₅ | 199,1 |
| 6 | ЭОЛ-2 × ЛГ 26 (без кастрации, опыление смесью пыльцы) | 446 |
| 7 | ЭОЛ-2 × ЛГ 26 (пульверизатор) | 582 |
| 8 | ЭОЛ-2 × ЛГ 26 (опрыскиватель) | 658 |
| 9 | ЭОЛ-2 × ЛГ 26 (ручная кастрация пинцетом) | 440 |
| 10 | ЭОЛ-2 (самоопыление) | 451 |
| | НСР ₀₅ | 206,2 |

Выводы. Полевые опыты показали, что применение электрического ранцевого опрыскивателя вполне применимо при кастрации срединных цветков корзинок подсолнечника. Затраты времени на данную манипуляцию при таком методе сокращаются до 2-3 минут на корзинку. Такой метод может применяться исследователями в том случае, если количество корзинок подсолнечника, отведённых под кастрацию, значительно (более 15-ти). Все остальные исследуемые способы кастрации растений также показали свою эффективность. Выбор же оптимального способа зависит от наличия оборудования и времени на манипуляцию у исследователя, а также объёма предполагаемой работы.

Количество полученных семян с корзинки во всех вариантах опыта при всех использованных методах кастрации сопоставимо с таковым в самоопылённом контроле. Это означает, что женский гаметофит при всех вариантах кастрации (даже при использовании электрического ранцевого опрыскивателя) не стра-

дает и выполняет свою функцию. Причём, среднее число выполненных семян за два года в варианте опыта с использованием ранцевого опрыскивателя у линии-закрепителя стерильности составило 120 шт./растение, а у линии-восстановителя фертильности – 658 шт./растение.

При использовании линии генетической коллекции ЛГ26 как мужского компонента в скрещивании в качестве метода определения гибридности семян F_1 по признаку антоциановости гипокотыля, необходимо создавать оптимальные условия освещения для проявления данного признака.

Литература

1. Боровик А.Н. Термическая кастрация – перспективный метод создания исходного материала // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар. – 2014. – Вып. 47. – С. 52-56.
2. Шатрыкин А.А., Шарко Н.С. Гибридизация зернового сорго с использованием водной кастрации в условиях Нижнего Поволжья // Научно-агрономический журнал. – Волгоград. – 2016. – Т.1, № 2-1 (99). – С. 36-38.
3. Обыдало А.Д. Обзор методов искусственной кастрации цветков на растениях подсолнечника // Научное обеспечение инновационных технологий производства и хранения сельскохозяйственной и пищевой продукции – Сб. материалов III Всероссийской научн.-практич. конф. молодых учёных и аспирантов. – ВНИИТТИ. – Краснодар. – 2016. – С. 49-56.
4. Волгин В.В., Обыдало А.Д. Сравнительная эффективность способов стерилизации пыльцы цветков подсолнечника // Науч.-техн. бюлл. ВНИИМК. Масличные культуры. – 2014. – Вып. 1(157-158). – С. 10-15.
5. Демури Я.Н., Перетягина Т.М., Борисенко О.М. Фотопериодическая мужская самостерильность в гибридизации подсолнечника // Масличные культуры. Научн.-техн. бюлл. ВНИИМК. – Краснодар. – 2005. – № 2(133). – С. 12-18.
6. Демури Я.Н., Пихтярёва А.А., Борисенко О.М. Гаметоцидный эффект имидазолинонов у гербицидоустойчивого подсолнечника // Масличные культуры. Научн.-техн. бюлл. ВНИИМК. – Краснодар. – 2012. – № 1(150). – С. 31-34.
7. Жизнь растений. – Под ред. А.Л. Тахтаджяна. – М., 1981. – Просвещение. – Т.5(2). – 508 с.

NEW METHOD OF CASTRATION OF FLOWERS OF SUNFLOWER HEADS

Tronin A.S., Pikhtyaryova A.A., Kameneva N.V.

In the field conditions, we established that the use of water castration of sunflower plants by means of an electric sprayer is very efficient. The number of set seeds using this method is comparable with self-pollinated control and is sufficient for further breeding and genetic work; in addition, time expenditures are significantly reduced. This method is applicable, in particular, with a large amount of castrated plants.

Keywords: sunflower, plant castration method, anther