

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СПОСОБОВ СТЕРИЛИЗАЦИИ ПЫЛЬЦЫ ЦВЕТКОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА

В.В. Волгин,
доктор сельскохозяйственных наук
А.Д. Обыдало,
младший научный сотрудник

ГНУ ВНИИМК Россельхозакадемии
Россия, 350038, г. Краснодар, ул. Филатова, д. 17
Тел.: (861)254-15-50
e-mail: vniiimk-centr@mail.ru

Выявлена сравнительная эффективность способов искусственной гибридизации растений подсолнечника на примере нескольких материнских линий – закрепителей стерильности пыльцы. Лучшими способами стерилизации пыльцы подсолнечника оказались ручная кастрация и обработка растений водным раствором гиббереллина, при этом достигается 94–100 % стерильности мужских элементов цветка. Смывание пыльцы водой вызывает недостаточный уровень стерильности – 50–80 %. Использование влажной камеры позволяет достигать высокого уровня стерильности пыльцы – 94–99 %, однако количество завязавшихся семян снижается в 3–4 раза – до 49–84 шт. на корзинку. Применение влажной камеры возможно для получения небольшого количества гибридных семян на начальных стадиях селекционного процесса, к тому же этот способ является наименее трудозатратным.

The comparative efficiency of sterilization methods of pollen of sunflower flowers. Volgin V.V., Obydalo A.D.

The comparative efficiency of methods of artificial hybridization of sunflower plants using several fertile female lines was revealed. The best methods of sterilization of sunflower pollen proved to be manual castration and plant treatment with an aqueous solution of gibberellin, in which case the 94–100 % sterility of male elements of flower is achieved. The flushing of pollen with water causes insufficient sterility of 50–80 %. The usage of a moisture chamber enables to achieve high levels of pollen sterility – 94–99 %, but the number of set seeds decreases by 3–4 times – up to 49–84 pcs. per head. The application of a moisture chamber is possible for receiving a small amount of hybrid seeds at the initial stages of breeding process; in addition, this method is the least labour-consuming.

Ключевые слова: мужская стерильность, кастрация, гибридизация, завязывание семян

УДК 633.854.78:631.523

В селекции подсолнечника важным этапом является скрещивание между собой линий, гибридов и сортов-популяций с целью получения нового исходного материала и гибридов. Для достижения 100 %-го уровня гибридизации возможно использование явления мужской стерильности материнского компонента, обусловленной различными причинами.

Мужская стерильность может быть вызвана ядерными генами, цитоплазматическим фактором или их взаимодействием [1], а также индуцироваться воздействием абиотических факторов внешней среды.

Для ускорения оценки линий – кандидатов в закрепители стерильности и получения нового исходного материала с высоким уровнем гибридности применяются различные способы скрещивания фертильных компонентов.

Гибридизация фертильных форм у подсолнечника связана с большими трудностями, вызываемыми морфологическими и биологическими особенностями растений [2]. При этом необходимо учитывать, что у подсолнечника вначале созревают мужские элементы цветка, а

затем – женские (протерандрия). На явление протерандрии в развитии цветка у подсолнечника есть указания в работах К. Фрувирта [3] и О.Н. Арнольдовой [4].

Техника искусственного скрещивания сводится к выполнению двух операций: кастрации цветков материнских линий и опылению их пылью, собранной с отцовских особей.

Существует несколько способов кастрации, позволяющих достигать высокого уровня мужской стерильности у подсолнечника. Одним из них является выщипывание пыльников вручную при помощи пинцета способом Ф.А. Сацыперова [5] в модификации А.И. Плотникова [6]. Однако, как показали многочисленные исследования, этот способ требует больших затрат труда. Менее трудоемким является способ химической кастрации гиббереллином [2; 7; 8; 9]. Наилучшие результаты получаются при опрыскивании подсолнечника водным раствором гиббереллина в концентрации 0,005 % (50 мг/л). На одно растение расходуется 10 мл раствора. При этом достигается до 100 % стерилизации андроцея.

Несмотря на значительные достижения при использовании способа химической кастрации гиббереллином, он вызывает некоторое снижение завязываемости семян на обработанных растениях [10].

Демуринов Я.Н. и др. [11] установили, что обработка гетерозиготных по генам имидазолиноустойчивости *CLNA-plus* или *Imr* растений подсолнечника имидазолинонами в фазе закладки генеративных органов во время бутонизации (фаза звездочки) позволяет получать мужские стерильные особи, которые могут быть использованы в качестве материнской формы при гибридизации.

Наряду с химической кастрацией подсолнечника гаметоцидами, используется явление мужской стерильности при длительном затемнении точки роста, недостатке питательных веществ в фазе зачаточной корзинки, при механических повреждениях проводящей системы стеб-

ля при заболевании ложной мучнистой росой [6], при выращивании в условиях высоких температур воздуха и почвы [12], а также в условиях измененного фотопериода [13;14].

Все отмеченные выше способы кастрации мужских элементов цветков подсолнечника либо трудоемки, либо не всегда позволяют достигать 100 %-ной гибридности растений при скрещивании.

Коломиец Н.Я. [15] использовал для кастрации цветков растений сорго полиэтиленовые изоляторы в фазе начало цветения–цветение. Для сорго было установлено, что этот способ позволяет значительно увеличить производительность труда при кастрации и повысить выход гибридных семян. Озерненность достигала в среднем 38–40 %.

Задача исследований заключалась в сравнительной оценке эффективности различных способов искусственной гибридизации растений подсолнечника.

Материал и методы. Опыты проводили в 2010–2013 гг. на полях центральной экспериментальной базы ВНИИМК, г. Краснодар. В 2010–2012 гг. растения трех линий – закрепителей стерильности пыльцы подсолнечника ВК 653 Б, ВК 806 Б и ВК 654 Б подвергали искусственной кастрации цветков различными способами: ручная кастрация (пинцетом), смывание пыльцы водой, опрыскивание растений водным раствором гиббереллина в фазе звездочки и посредством помещения корзинки во влажную камеру перед цветением. Опылителем служила неродственная линия СЛ₀₁3854В.

Корзинки 40 растений каждого испытываемого варианта изолировали индивидуально, причем половина из них (20 штук) выращивалась при искусственном опылении пылью неродственной материнской линии, а вторая половина растений – без опыления.

При ручной кастрации способом Ф.А. Сацыперова [5] в модификации А.И. Плотникова [6] намеченные к скрещиванию растения накануне зацветания накрывали

индивидуальными изоляторами из спанбонда. Прежде чем надеть изолятор, у корзинок обрывали язычковые цветки, наружные листья обертки и концы внутренних листьев обертки. На следующий день у всех подготовленных растений производили кастрацию раскрывшихся цветков в пределах всего пояса. Эта работа выполнялась с 6 до 9 часов утра. После выщипывания пыльников, кастрированная зона еще раз просматривалась и продувалась воздушным потоком от остатков пыльцы. На следующий день кастрировался следующий пояс на той же корзинке, и такая операция осуществлялась несколько раз на протяжении 5–6 дней. Оставшиеся цветки, расположенные в центральной части корзинки, удалялись. Опыление производили на следующий день после кастрации.

Смывание пыльцы водой осуществлялось каждый день с 9 до 12 часов с помощью опрыскивателя, при этом корзинки, как и в первом варианте, накрывались изоляторами.

При химической кастрации водным раствором гиббереллина использовали 0,005 % концентрацию, расход раствора составлял в среднем 10 мл/растение. Опрыскивание всего растения проводилось в фазе звездочки, согласно методике, предложенной рядом авторов [2; 7; 8; 9].

Создание влажной камеры осуществлялось посредством изоляции корзинок перед цветением, при этом в нижней части камеры делали отверстия диаметром 1–2 мм для стока избытка воды, испаряющейся с корзинок. Опыление стерильных цветков проводили на следующий день после начала цветения. Кастрирование цветков и опыление чужеродной пылью таким способом осуществляли в два срока: в течение 2–3 дней, при этом опыляли 6–10 рядов цветков– и в течение 4–5 дней опыляли 12–20 рядов. Данные процедуры проводили для оценки сравнительной эффективности этих вариантов опыта.

В 2013 г. опыты проводили на трех других линиях закрепителей стерильности пыльцы подсолнечника ВК 806 Б, ВК 869 Б и СЛ₀₁3850 В. Опылителем служила неродственная линия СЛ₀₁3854 В. Это было сделано для сравнения эффективности оцениваемых методов кастрации цветков подсолнечника на двух линиях, неродственных ранее указанным.

После обмолота корзинок и удаления растительных остатков, учитывали только выполненные семянки.

Результаты и обсуждение. На завязываемость семян подсолнечника существенное влияние оказывают температура и влажность воздуха в период цветения. Более высокий процент завязывания семян получается в том случае, если опыление производилось в хорошую погоду (при температуре 20–30 °С и относительной влажности воздуха 60–70 %), и наоборот, низкий процент завязываемости семян – при неблагоприятных условиях, особенно при засухе и высокой температуре воздуха [6; 16].

В связи с этим в процессе исследований учитывали среднемесячную температуру воздуха и осадки за период вегетации подсолнечника (табл. 1).

Таблица 1

Динамика среднесуточных температур воздуха и количество осадков в годы проведения опытов в сравнении со среднемноголетней нормой

Метеостанция «Круглик», г. Краснодар

Погодный фактор	Год	Месяц				
		май	июнь	июль	август	сентябрь
Температура воздуха, °С	средне-многолетняя	16,8	20,4	23,2	22,7	18,4
	2010	19,2	24,6	26,8	27,7	21,7
	2011	17,1	22,6	27,1	23,7	19,4
	2012	22	24	26,5	26	21,4
	2013	21,8	23,5	24,9	25,3	16,9
Количество выпавших осадков, мм	средне-многолетняя	57	67	60	48	43,0
	2010	62	65	65	49	18,5
	2011	107	54	3	81	22,0
	2012	75	18	84	4	33,0
	2013	17	86	96	35	106,6

Особый интерес представляют данные за июль, поскольку именно в этот период происходит цветение и завязывание семян подсолнечника. Судя по представленным данным, во все изучаемые годы температура воздуха в этом месяце была выше среднемноголетней, однако можно отметить наиболее высокий показатель в 2011 г. (27,1 °С) и низкий – в 2013 г. (24,9 °С) при среднемноголетней норме 23,2 °С. В то же время наименьшее количество осадков выпало в 2011 г. (3 мм), наибольшее – в 2013 г. (96 мм) при среднемноголетней норме 60 мм.

В течение периода исследований (2010–2013 гг.) наблюдалась высокая мужская стерильность изучаемых линий подсолнечника (94–100 %) на трех вариантах исследования: при обработке гиббереллином, выщипывании пыльников вручную и помещении корзинок во влажную камеру. На рисунке показаны стерильные цветки на корзинке после снятия влажной камеры. В отличие от вышеотмеченных способов, опрыскивание цветков водой позволило получить лишь 52–81 % стерильности андроеца (табл. 2).



Рисунок – Цветки подсолнечника со стерильной пылью на примере использования влажной камеры, 2013 г.

Во все годы исследований было выявлено, что лучшие результаты по количеству завязавшихся семян наблюдались при использовании способов кастрации цветков с опылением пылью неродст-

венной линии при кастрации цветков вручную (пинцетом), с обработкой растений подсолнечника водным раствором гиббереллина и смыванием пыльцы водой.

Однако следует обратить внимание на относительное количество полученных гибридных семян. Если при кастрации вручную, обработке водным раствором гиббереллина количество семян, завязавшихся без искусственного опыления, варьировало в среднем от 0,43 до 1,36 %, то при смывании пыльцы водой эти показатели были значительно выше и составили 17,73–25,17 %. Это свидетельствует о низком уровне гибридности получаемых семян, так как наблюдается большое процентное число их завязывания от самоопыления.

Следует также отметить, что в 2011 г. при кастрации цветков материнских линий подсолнечника вышеуказанными способами завязалось наименьшее количество семян при гибридизации, что, по-видимому, обусловлено высокой среднемесячной температурой воздуха (27,1 °С), малым количеством выпавших осадков (3 мм) и соответственно засухой в июле, когда происходило цветение и завязывание семян у подсолнечника (см. табл. 1).

Наименьшее количество семян образовалось при использовании влажной камеры: 49–84 семечки на корзинку в среднем, что, по всей вероятности, связано с высокой влажностью и температурой воздуха (выше окружающей среды на 5–6 °С). Наибольшее количество семян при гибридизации завязалось в 2011 г., когда выпало наименьшее количество осадков и относительная влажность воздуха снижалась до 30–0 %. Однако именно в этот период наблюдалась самая высокая среднемесячная температура воздуха (27,1 °С). По-видимому, низкая относительная влажность воздуха за пределами влажной камеры, которая сообщалась с окружающей воздушной средой через отверстия в нижней части, могла положительно повлиять на уровень оплодотворения завязи и образование семечки.

Таблица 2

Количество (штук) семян, завязавшихся в корзинке подсолнечника при разных способах кастрации цветков

ВНИИМК, г. Краснодар

Год	Наименование линии	Способ кастрации							
		вручную пинцетом		раствором гиббереллина		Опрыскивание водой		помещение во влажную камеру	
		без опыления	с опылением*	без опыления	с опылением	без опыления	с опылением	без опыления	с опылением
2010	ВК 653 В	3	186±21,4	2	170±18,5	46	157	0	54±5,4
	ВК 806 В	3	263±27,8	3	235±29,2	45	250±30,7	1	58±6,9
	ВК 654 В	2	183±15,7	2	223±26,6	47	186±22,3	0	50±5,3
	среднее	2,7	210,7	2,3	209,3	46	197,7	0,3	54
	% варианта без опыления к варианту с опылением	1,28		1,09		23,27		0,56	-
2011	ВК 653 В	1	137±14,9	1	113±13,2	20	100±15,1	1	83±10,2
	ВК 806 В	0	211±28,4	2	172±21,8	27	187±20,3	1	88±11,6
	ВК 654 В	1	142±15,6	1	169±18,7	29	141±18,4	0	81±10,5
	среднее	0,7	163,3	1,3	151,3	25,3	142,7	0,7	84,0
	% варианта без опыления к варианту с опылением	0,43		0,86		17,73		0,83	-
2012	ВК 653 В	2	191±26,1	2	204±22,9	49	170±19,1	0	1
	ВК 806 В	2	284±32,4	4	247±24,6	44	195±21,6	0	2
	ВК 654 В	1	170±18,1	3	211±25,3	38	196±23,4	0	0
	среднее	1,7	215,0	3,0	220,7	43,7	187,0	0	1
	% варианта без опыления к варианту с опылением	0,79		1,36		23,37		-	-
2013	ВК 806 В	2	197±18,9	2	163±20,4	40	160±17,2	1	54±5,7
	ВК 869 В	1	153±17,8	2	170±20,1	48	169±21,8	1	36±4,2
	Сл ₀₁ 3850 В	3	264±27,5	4	235±19,6	45	199±25,5	0	56±5,6
	среднее	2,0	204,7	2,7	189,3	44,3	176	0,7	48,7
	% варианта без опыления к варианту с опылением	0,98		1,42		25,17		1,44	

Примечание: * – линия-опылитель Сл₀₁3854В

Следует также отметить, что при кастрации пыльцы во влажной камере лучшим вариантом оказались кастрация и опыление в течение 2–3 дней (6–10 рядов цветков). Это связано с тем, что при аналогичных операциях с цветками в течение 4–5 дней, семянки, даже завязавшись, погибали из-за воздействия семенной инфекции, высокой влажности и температуры воздуха во влажной камере.

Наряду с количеством получаемых гибридных семян, важным показателем является количество рабочего времени, затрачиваемого на осуществление кастрации цветков подсолнечника.

В связи с этим следует отметить, что наименьшее количество трудозатрат и рабочего времени потребовалось при использовании влажной камеры (60–90 секунд) и обработке гиббереллином – 20–25 секунд на корзинку. Больше всего затрат потребовал вариант с ручной кастрацией пинцетом – 8–10 минут (на всю корзинку). При обработке водой этот показатель составлял в среднем 3–4 минуты.

Заключение. Воздействие на цветки материнских линий подсолнечника посредством ручной кастрации пинцетом и обработкой растений в фазе звездочки водным раствором гиббереллина позволяет достигать 94–100 %-ной стерильности мужских элементов цветка. Количество завязавшихся гибридных семян составляет 150–210 шт. на корзинку в среднем. Смывание пыльцы водой вызывает недостаточный уровень проявления стерильности пыльцы – 50–80 % и, как следствие, снижение количества гибридных семян. Использование влажной камеры позволяет достигать высокой стерильности пыльцы на уровне 94–99 %, однако количество завязавшихся гибридных семян при этом способе меньше в 3–4 раза (49–84 шт. на корзинку в среднем), чем при ручной кастрации и использовании водного раствора гиббереллина.

Наименее трудозатратными оказались два варианта: обработка растений водным раствором гиббереллина и изоляция корзинки во влажной камере.

Список литературы

1. Боос Г.В., Бадина Г.В., Буренин В.И. Гетерозис овощных культур. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 219 с.
2. Шустер В. Искусственное вызывание стерильности у подсолнечника // Сельское хозяйство за рубежом. – М., 1964. – № 4. – С. 36–39.
3. Фрувирт К. Подсолнечник (*H. annuus* L.) // Селекция кукурузы, кормовой свёклы и др. корнеплодов, масличных растений и кормовых злаков. – 1914. – С. 195–208. (перевод с немецкого Сацыперова).
4. Арнольдова О.Н. К биологии цветения подсолнечника в связи с техникой его скрещивания // Опытная агрономия Юго-Востока. – 1926. – Т. 3. – Вып. – 1. – С. 139–140.
5. Сацыперов Ф.А. Полевые опыты и наблюдения над подсолнечником // Труды по прикладной ботанике. – Петроград, 1914. – Том VII. – С. 552–592.
6. Плотников А.И. Биология цветения подсолнечника // Подсолнечник. – 1940. – С. 44–87.
7. Анащенко А.В. Химическая кастрация подсолнечника // Доклады ВАСХНИЛ. – М., 1967. – № 2. – С. 17–18.
8. Анащенко А.В. Мужская стерильность модификационного характера у подсолнечника // Сельскохозяйственная биология. – М., 1968. – Т. III. – № 4. – С. 544–549.
9. Анащенко А.В. Особенности выращивания подсолнечника при химической кастрации // Селекция и семеноводство. – 1971. – № 2. – С. 36–38.
10. Федин М.А., Кузнецова Т.А., Альсинг Т.К., Воскобойник Л.К., Федоренко Т.С., Кабочник М.И., Матрюкова Т.А., Генкина Г.К., Кочан А.С., Пискунова Е.М. Гаметоцидная композиция для подсолнечника авт.свид. СССР № 1743495 публ. 30.06.92 по заявке № 3751948/15 от 20.03.84.
11. Демури Я.Н., Пихтярева А.А., Борисенко О.М. Гаметоцидный эффект имидазолинонов у гербицидоустойчивого подсолнечника // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. – 2012. – Вып. 1 (150). – С. 31–34.
12. Гвоздева С.Н. Особенности роста и формирования продуктивности подсолнечника в условиях регулируемой внешней среды // Дис. канд. с.-х. наук. – Краснодар, 1980. – 141 с.
13. Джусеин Х.Е. Способ получения гибридов растений // Патент РФ № 2210884 публ. 27.08.2003 по заявке № 971209961/13 от 20.05.1996.
14. Демури Я.Н., Перетягина Т.М., Борисенко О.М. Фотопериодическая мужская стерильность в гибридизации подсолнечника // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2005. – Вып. 2 (133). – С. 12–18.
15. Коломиец Н.Я. Способ кастрации растений сорго // Селекция и семеноводство. – 1989. – № 5. – С. 3–4-я обложки.
16. Семихненко П.Г., Ключников А.И., Токарев Т.М., Ягодкина, Питерская А.М. Агробиологические особенности подсолнечника // Культура подсолнечника. – М., 1960. – С. 6–40.