

УДК 635.152:631.527.52: 631.527.53

**СОЗДАНИЕ ЛИНИЙ ЛОБЫ (*RAPHANUS SATIVUS* L.),
УСТОЙЧИВЫХ К КИЛЕ, И ОЦЕНКА
ИХ КОМБИНАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ**

А.А. МИРОНОВ, Г.Ф. МОНАХОС

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

*В тройном тесткроссе (F_1 , F_2 , BC^S_1 и BC^R_1) и анализе потомств от беккроссных устойчивых растений установлено, что устойчивость линии дайкона Да8 к *Plasmodiophora brassicae* Wor. наследуется моногенно доминантно. При скрещивании редьки с фиолетовой окраской и зеленой окраской корнеплодов зеленая окраска наследуется моногенно рецессивно. Сцепление признаков устойчивости к киле и фиолетовая окраска головки корнеплода составляет 19 сМ. Выделены линии с высокой ОКС по средней массе корнеплода.*

Ключевые слова: *Raphanus sativus* L., лоба, тройной тесткросс, кила крестоцветных, устойчивость, наследование признаков, комбинационная способность.

В последние годы широкую популярность у населения нашей страны обрела лоба (*Raphanus sativus* L.). Большие площади занимает сорт Маргеланская, формирующая корнеплоды с зеленой окраской головки. Однако сорта лобы, возделываемые в нашей стране, отличаются очень высокой восприимчивостью к наиболее вредоносному у крестоцветных заболеванию — киле крестоцветных.

Возбудитель килы крестоцветных распространен практически везде, где представители данного семейства возделываются в качестве культурных растений. Генетический центр килы идентичен с центром происхождения крестоцветных [14].

Распространение спор *P. brassicae* происходит как в процессе мероприятий по обработке почв, так и с поверхностным и внутрипочвенным током вод и в небольшой степени ветром [2, 6, 7, 11]. Проникая в почву на глубину до 25–30 см, споры патогена сохраняют способность к инфекции до 15 лет [11].

Наиболее эффективным способом борьбы с этим заболеванием следует считать создание и возделывание устойчивых сортов. В роде *Brassica* в качестве наиболее эффективного донора устойчивости используют европейские репы. Выявлено, что у образца репы европейской ЕСД04 устойчивость контролируется тремя полимерными генами, действующими по принципу некумулятивной полимерии [4]. Этот донор использован при создании устойчивых гибридов капусты пекинской [5]. У *Brassica oleracea* выявлены образцы, устойчивость которых контролируется двумя рецессивными генами [8].

При поиске источников устойчивости выявлено, что в роде *Raphanus* устойчивость встречается чаще, чем в роде *Brassica* [13, 15]. М.С. Бунин [1] при проведении совместных экспериментов в NIVOT (Япония) обнаружил, что отдельные сорта редек обладают наиболее высоким генетическим потенциалом устойчивости к расе 2 килы по сравнению с другими представителями RR генома ($n=9$) и всех геномов *Brassica*. По его мнению, устойчивость к киле и слизистому бактериозу контролируется единичными рецессивными генами. Вместе с тем у межродовых гибридов *Raphanobrassica*, полученных от скрещивания устойчивой редьки и восприимчивой белокочанной капусты, устойчивость к расе килы ECD 20/31/31 сохраняется [12], что говорит о ее доминировании. Сообщения о наследовании устойчивости к *P. brassicae* Wor. в роде *Raphanus* в литературе указывают на моногенно доминантный тип [3, 9]. Они предлагают искать высокую устойчивость к киле среди генетических ресурсов редьки для создания на их основе доноров в целях последующего использования в селекции на иммунитет у других подвидов *Raphanus*.

Материал и методика

В качестве донора гена устойчивости к киле использовали растения линии Да8, отобранной в предыдущие годы при оценке коллекции сортов и гибридов дайкона и лобы на жестком инфекционном фоне, линия имеет фиолетовую окраску корнеплода. В качестве восприимчивого родителя — растения линии 25-1, отобранной из потомства второго инбредного поколения лобы из сорта китайского происхождения Сшиаочин, — линия имеет зеленую окраску корнеплода.

Оценку устойчивости к киле полученных популяций растений и родительских форм проводили на искусственном инфекционном фоне. Индекс расового состава использованной полевой популяции патогена в соответствии с реакцией европейских сортов-дифференциаторов (ЕСД) — 16/24/31. Для заражения использовали суспензию спор в концентрации 10^7 спор/мл, полученную следующим путем: желваки сильно пораженного растения, хранившиеся в холодильной камере при температуре -18°C , измельчали на терке; гомогенную массу разводили в воде, настаивали несколько минут и фильтровали через четырехслойную марлю; концентрацию исходной суспензии спор определяли в камере Горяева и разведением чистой водой доводили до необходимой. При оценке пользовались следующей шкалой: 0 баллов — отсутствие симптомов; 1 — мелкие желваки на боковых корнях; 2 — слабое поражение центрального корня; 3 — сильное поражение корнеплода (рис. 1).



Для изучения характера наследования устойчивости к

Рис. 1. Симптомы поражения килей: слева — пораженные килей (3 балла), справа — устойчивые (0 баллов)

Plasmiodiophora brassicae Wor. у линии Да8 был проведен гибридологический анализ устойчивости линии методом тройного тест-красса (рис. 2).

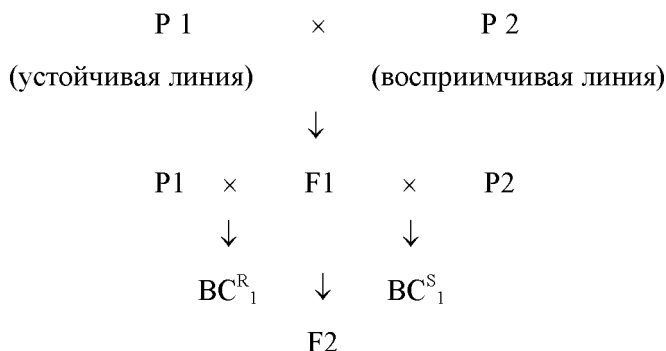


Рис. 2. Схема тест-скрещиваний для гибридологического анализа устойчивости к киле крестоцветных (*Plasmiodiophora brassicae* Wor.) донора устойчивости линии Да8

Для интерпретации результатов расщепления была использована моногенно-доминантная модель. Эта модель предполагает полную устойчивость к заболеванию у растений F_1 и в потомстве от беккрасса с устойчивым родителем BC_1^R , для поколения F_2 — расщепление 3:1 (устойчивые и восприимчивые), для потомства от беккрасса с восприимчивым родителем — расщепление 1:1, т.е. 50% растений должны были быть пораженными и 50% — устойчивыми.

Результаты и их обсуждение

Гибрид F_1 между линиями Да8 и 25-1 проявил себя как полностью устойчивый: из 59 анализируемых — 59 устойчивых, и все с фиолетовой окраской корнеплода (табл. 1). В беккроссе с устойчивой линией Да8 из 57 растений 57 были также устойчивыми. В беккроссе восприимчивым родителем наблюдали расщепление, близкое к теоретически ожидаемому.

Гибрид F_2 дал следующее расщепление: из 180 анализируемых 111 оказались устойчивыми, а 69 — пораженными, что значительно отличается от теоретически ожидаемого расщепления 135 к 45. Детальный анализ расщепления в F_2 при разделении растений по окраске головки корнеплода и устойчивости показал, что окраска существенно влияла на сегрегацию признака устойчивости. При этом среди корнеплодов с фиолетовой головкой устойчивые растения встречаются чаще (табл. 2).

Путем математических расчетов расщепления F_2 (табл. 2) было установлено, что сцепленность признаков устойчивости и фиолетовой головки корнеплода находится на уровне 19 сМ.

$$X = (A + C)/N \cdot 100,$$

где X — частота кроссинговера, N — общее число растений, A и C — частота кроссоверных гамет.

$$X = (14 + 21)/180 \cdot 100 = 19\text{сМ}$$

Таблица 1

Результаты тройного тесткросса по устойчивости к киле

	Общее число растений	Число непораженных растений	Число пораженных растений	Теоретич. ожидаемое		Х ² факт.	Х ² теор.
				уст.	воспр.		
P ₁ Да8	17	17	0	17	0		
P ₂ 25-3	11	0	11	0	11		
F ₁ (Да8x25-3)	59	59	0	59	0		
F ₂ (Да8x25-3)	180	111	69	135	45	13,2	3,84
BC ^R ₁ (Да8x25-3)Да8	57	57	0	57	0		
BC ^S ₁ (Да8x25-3)25-3	194	101	93	97	97	0,32	3,84

Таблица 2

Анализ расщепления F2 по устойчивости к киле и окраске головки корнеплода

	Всего	Устойчивые	Восприимчивые	Расщепление, полученное в опыте	Теоретически ожидаемое расщепление	
					устойчивые	восприимчивые
С зеленой головкой	62	14	48	1 : 3,4	46	16
С фиолетовой головкой	118	97	21	4,6 : 1	88	30
Всего	180	111	69	1,6 : 1	135	45

Этим объясняется различие между теоретически ожидаемым и практическим расщеплением.

Таким образом, гибридологический анализ устойчивости к киле линии Да8 в целом подтвердил теоретически ожидаемые результаты. В опыте подтверждается доминантный характер устойчивости, при этом можно утверждать, что она контролируется одним доминантным геном.

В беккроссах BC^S₁ отобраны растения с цилиндрическим корнеплодом и зеленой окраской, и проведено насыщающее скрещивание восприимчивыми линиями лобы (BC^S₂).

В 2008 г. инокуляцию спорами килы проводили дважды: при посеве в каждую ячейку кассеты и перед высадкой — поливом суспензии 10⁶ в 1 мл воды. После этого 15 линий лобы, первого поколения инбридинга от BC^S₂ были пересажены на участок открытого грунта. В каждой линии были отобраны устойчивые растения (генотипы AA и Aa), цилиндрические по форме и с зеленой окраской головки корнеплода.

В 2009 г. на жестком инфекционном фоне была испытана 71 линия лобы, полученная двукратным инбридингом от BC^S₂. 21 линия показала полную устойчи-

вость к киле крестоцветных, 43 линии показали расщепление, близкое к 3:1 (745:226) (рис. 2), и 7 линий полностью оказались восприимчивыми.

В результате отбора растений, полученных двукратным инбридингом от BC_2^S на инфекционном фоне, в 2009 г. отобрано 9 линий редьки китайской (лобы), гомозиготных по гену устойчивости к киле и с зеленой окраской головки корнеплода и цилиндрической формой (рис. 3, 4).



Рис. 3. Корнеплоды гомозиготной по устойчивости линии лобы 24ки6



Рис. 4. Корнеплоды гомозиготной по устойчивости линии лобы Да8-8

На следующем этапе из линий, гомозиготных по гену устойчивости, путем пятикратного инбридинга создали коллекцию чистых линий. В системе полных диаллельных скрещиваний провели анализ комбинационной способности линий лобы, гомозиготных по гену устойчивости (табл. 3). В целом по опыту средняя урожайность

Т а б л и ц а 3

**Средняя масса корнеплода F1 гибридов,
эффекты общей комбинационной способности устойчивых к киле линий лобы**

	Да8з41781	Да8з21261	Да8з41788	24ки64343	24ки64755	24ки64769
Да8з41781	126,0	206,0	184,5	260,0	236,0	297,5
Да8з21261	254,5	141,0	263,0	224,5	257,0	288,5
Да8з41788	156,0	235,5	128,5	224,5	281,0	310,5
24ки64343	221,0	185,5	240,0	69,0	140,0	62,5
24ки64755	206,0	317,0	264,5	199,0	107,5	207,5
24ки64769	313,5	279,0	140,0	124,5	199,0	103,5
ОКС	8,54	25,67	6,00	-38,8	3,12	-4,58
НСР(х) = 87,42; НСР(ОКС) = 57,56						

гибридных комбинаций составила 225,7 г. Самыми крупными корнеплодами обладали комбинации Да8з21261х24ки64755 (317,0 г.) и Да8з41781х24ки64769 (313,5 г.).

Самым высоким эффектом ОКС обладает линия Да8з21261 (25,67 г.) (наиболее перспективная для создания высокоурожайных гибридов), самым низким — 24ки64343 (–38,8 г.). Остальные линии имеют средние показатели, близкие к нулю, и существенно не различаются между собой по общей комбинационной способности.

Анализ взаимосвязи вариантов V_r и коварианс родитель-потомок W_r выявил наличие значительных эффектов комплементарного взаимодействия полигенов, контролирующих массу корнеплода F_1 гибридов (коэффициент регрессии W_r/V_r значительно отличается от единицы, $b = 0,54$) (рис. 5).

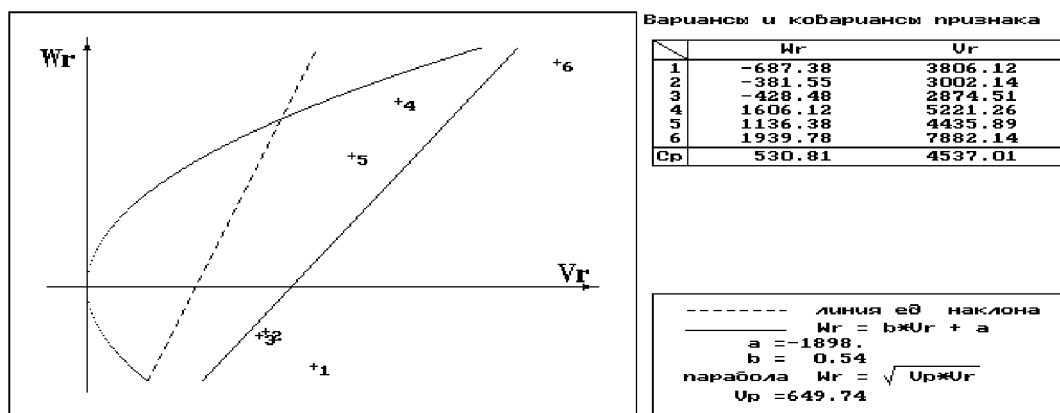


Рис. 5. Регрессия ковариаций «Родитель-потомок» (W_r) и вариаций потомков (V_r) самонесовместимых линий лобы по средней массе корнеплода

Пересечение линии регрессии W_r/V_r ниже точки начала координат говорит о наличии в наследовании средней массы корнеплода эффекта сверхдоминирования. Из графика регрессии коварианс родитель-потомок на варианты потомков (гибридов) следует, что изучаемые линии разделились на две группы: линии Да8з41781, Да8з21261 и Да8з41788 обладают преимущественно доминантными полигенами и высокой ОКС; линии 24ки64343, 24ки64755 и 24ки64769 — рецессивными, контролирующими признак массы корнеплода.

Заключение

Определено, что устойчивость к киле линии Да8 контролируется одним доминантным геном. При передаче гена устойчивости от линии Да8, имеющей фиолетовую окраску корнеплода, в лобу с зеленой окраской корнеплода в поколении F_2 следует ожидать меньшее число устойчивых растений с зеленой окраской ввиду сцепленности признака «Фиолетовая окраска корнеплода и устойчивость к киле» на уровне 19 сМ. Путем оценки комбинационной способности созданных зеленоплодных, устойчивых к киле линий лобы выделена линия Да8з21261, обладающая высоким значением ОКС (25,67 г.) и установлено, что признак «Средняя масса корнеплода» наследуется по типу сверхдоминирования.

Библиографический список

1. Бунин М.С. Новые овощные культуры России // МСХ РФ. М.: «Росинформагротех», 2002. С. 150–155.
2. Герасимов Б.А., Осницкая Е.А. Вредители и болезни овощных культур. М., Сельхозиздат, 1961. 79 с.
3. Монахов Г.Ф., Зубик И.Н. Наследование устойчивости к киле у линий дайкона // Докл. ТСХА. Вып. 272, 2000. С. 85–88.
4. Монахов Г.Ф., Теренина Н.С. Генетические источники устойчивости к киле крестоцветных (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) при селекции пекинской капусты // Известия ТСХА. 1998. Вып. 3. С. 87–93.
5. Монахов С.Г., Нгуен М.Л. Селекционная ценность генов устойчивости к киле линий *Brassica para* L. и эффективность молекулярных маркеров картированных локусов // Известия ТСХА. 2013. Вып. 6. С. 68–81.
6. Соколова Л.А., Тупеневич С.М. Кила капусты. Л.: Колос, 1974. 74 с.
7. Стэксмен Э., Харрар Дж. Основы патологии растений. М., 1959. 136 с.
8. Ушапов А.А., Монахов Г.Ф. Наследование устойчивости к киле (*Plasmodiophora brassicae* Wor.) у линий кормовой капусты (*Brassica oleracea* ssp. *Acerphala*) // Известия ТСХА. М.: Изд-во МСХА, 1998. Вып. 2. С. 106–115.
9. Ashizawa M., Yoshikawa H., Hida K. Studies on the breeding of clubroot-resistance in cole crops. II. Screening of cole crops for clubroot-resistance (2) // Bull. Veg. & Ornam. Crops Res. Sta/Ser.A. 1980. № 7. P. 35–75.
10. Crute G.R., Gray A.R., Crisp P., Buczacki S.T. Variation in *Plasmodiophora brassicae* and resistance to clubroot disease in Brassicas and allied crops // A criticae review. Plant Breeding Abstract. 1980. № 50. P. 91–104.
11. Mattusch P. Epidemiology of clubroot of crucifers caused by *Plasmodiophora brassicae* // In: Buczacki S.T. & Williams P.H. (Eds.): Woronin + 100 international conference on clubroot, Madison, Wisconsin. 1978. P. 24–28.
12. Naiki T., Kageyama K., Tanahashi K., Ikegami H. The relationship between root hair infection and club formation in Chinese cabbage // Chinese cabbage: Proceeding of the 1-st international symposium. Taiwan: N.S. Talekar&T.D. Griggs, AVRDC. 1981. P. 91–104.
13. Rowe R.C. Evaluation of radish cultivars for resistance to clubroot (*Plasmodiophora brassicae*) race 6 for midwestern // US. Plant Dis. № 64. 1980. P. 462–464.
14. Watson A.G. et al. Possible gene centers for resistance in the genus *Brassica* to *Plasmodiophora brassicae* // Economic Botany. 1969. № 23. P. 245–252.
15. Yoshikawa H., Buczacki S.T. Clubroot in Japan: Research and problems. // Rev. Plant Pathol. № 57. 1978. P. 253–257.

DEVELOPING LINES OF LOBA (*RAPHANUS SATIVUS* L.) RESISTANT TO CLUBROOT AND EVALUATION OF THEIR COMBINING ABILITY

A.A. MIRONOV, G.F. MONAKHOS

(Russian Timiryazev State Agrarian University)

Clubroot — widespread disease in Brassicaceae family caused by pathogen Plasmodiophora brassicae Wor. Effective chemicals to combat the pathogen do not exist. Therefore, the work on creating hybrid members of the cabbage family with genetic resistance to clubroot is quite urgent. In this paper we studied the genetic resistance in the daikon line — Da8. It has been found that the

resistance is controlled by a single dominant gene. When transferring the resistance gene from the line Da8, having violet root in loba with green color in the root, F2 generation should be expected to have smaller number of resistant plants with green color due to entanglement characteristics of violet color roots and the resistance to clubroot at 19 cM level. Having estimated the combining ability of developed loba line resistant to clubroot and with green color of the root the Da8z21261 line can be highlighted that is characterized by high level of GCA (25.67g). And it was revealed that such parameter as "the average weight of root" is inherited as an overdominant feature.

Key words: Raphanus sativus, loba, triple testcross, clubroot, stability, inheritance of characteristics, combining ability.

Миронов Алексей Александрович — к. с.-х. н., доц. кафедры селекции и семеноводства садовых культур РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49; тел.: (499) 976-41-71; e-mail: alexeimrnv@gmail.com).

Монахос Григорий Федорович — к. с.-х. н., ст. науч. сотр., генеральный директор ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева» РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, Москва, ул. Пасечная, 5; тел.: (499) 977-11-74; e-mail: breedst@mail.ru).

Mironov Aleksey Aleksandrovich — PhD in Agriculture, Associate Professor of the Department of Breeding and Seed Production of Horticultural Crops, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya street, 49; tel.: +7 (499) 976-41-71; e-mail: alexeimrnv@gmail.com).

Monakhos Grigoriy Fedorovich — PhD in Agriculture, senior research scientist, general manager of limited liability company «N.N. Timofeev Breeding Station», Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Pasechnaya street, 5; tel.: +7 (499) 977-11-74; e-mail: breedst@mail.ru).