

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«АРМАВИРСКАЯ ОПЫТНАЯ СТАНЦИЯ ВСЕРОССИЙСКОГО НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР имени
В.С. ПУСТОВОЙТА»

На правах рукописи



ФРОЛОВ
Сергей Сергеевич

СЕЛЕКЦИЯ ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ
К ИМИДАЗОЛИНОВЫМ ГЕРБИЦИДАМ

Специальность 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных
растений

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор Демури Я.Н.

Армавир – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ВВЕДЕНИЕ	
1 БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ИМИДАЗОЛИНОНОУСТОЙЧИВОСТЬ (обзор литературы).....	8
1.1 Подсолнечник как культурное растение.....	8
1.2 Создание межлинейных гибридов подсолнечника.....	15
1.3 Селекция подсолнечника на устойчивость к имидазолинонам.....	26
2 УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	32
2.1 Почвенно-климатические условия проведения опытов	32
2.2 Материал и методы исследований	38
3 СКРИНИНГ ГЕНОТИПОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ИМИДАЗОЛИНОНОВЫМ ГЕРБИЦИДАМ	41
3.1 Селекционный генофонд ЦЭБ ВНИИМК.....	41
3.2 Селекционный генофонд Армавирской опытной станции ВНИИМК	46
4 СОЗДАНИЕ ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИМИДАЗОЛИНОНОВЫМ ГЕРБИЦИДАМ.....	48
4.1 Совершенствование способов определения ценотически продуктивных генотипов при индивидуальном отборе	48
4.2 Создание имидазолиноноустойчивых родительских линий.....	61
4.3 Создание и изучение гибрида подсолнечника Арими в производственной системе Clearfield®.....	68
5 КВАЛИФИКАЦИОННЫЙ ТЕСТ BASF ДЛЯ ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА АРИМИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ИМИДАЗОЛИНОНАМ.....	75
ВЫВОДЫ.....	80
РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКИ.....	82
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	83
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	97

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) является главной масличной культурой России. При этом его доля в производстве растительных масел достигает 80 %, а ежегодный сбор маслосемян – более 7 млн. тонн [50].

Существует потенциал увеличения урожайности подсолнечника в производственных посевах за счет более эффективного уничтожения сорняков и борьбы с цветковым паразитом заразихой [13]. Количественной оценкой этого потенциала может служить очевидное несоответствие значений семенной продуктивности современных сортов и гибридов подсолнечника в хороших условиях выращивания около 3 т/га и реальной урожайности, например, в среднем по России в благоприятном 2013 г. – только 1,56 т/га [50]. Следовательно, около половины урожая подсолнечника теряется из-за низкой культуры земледелия.

В настоящее время в мировом сельскохозяйственном производстве с 2003 г., а в России с 2008 г., используется новая производственная система выращивания подсолнечника Clearfield® (BASF), состоящая из двух компонентов: послевсходовой обработки растений высокоэффективными гербицидами имидазолинонового ряда (Евро-Лайтнинг®), обладающими системным действием, и гербицидоустойчивого гибрида [37]. Признак устойчивости был обнаружен в популяции дикорастущего подсолнечника в 1996 г. в США и передан в генофонд культурного подсолнечника обычными селекционными методами. Этот признак контролируется основным полудоминантным геном *Imr* при наличии дополнительного гена-модификатора [109].

Генетическая устойчивость к имидазолиновым гербицидам, с действующими веществами имазапир и имазамокс, при использовании технологии выращивания Clearfield® на подсолнечнике, представляет большую ценность для контроля широкого спектра сорняков, включая амброзию [104] и заразиху [82].

В Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в России, начиная с 2007 г. по настоящее время, внесено несколько десятков только зарубежных гербицидоустойчивых гибридов подсолнечника [20].

В нашей стране во ВНИИМК были выполнены первые генетические исследования признака имидазолиноустойчивости [23], однако селекционных работ по этому направлению ранее не проводилось.

Цель исследования. Создать и изучить межлинейный гибрид подсолнечника с устойчивостью к имидазолиновым гербицидам для производственной системы Clearfield®.

Задачи исследования:

- оценить частоту встречаемости гена гербицидоустойчивости при широкомасштабном скрининге селекционного материала по толерантности к имидазолиномам;
- создать и изучить гербицидоустойчивые родительские линии и экспериментальный гибрид;
- оценить степень устойчивости полученного гибрида к имидазолиномам в квалификационном испытании.

Идея работы. Обеспечить селекционное решение задачи получения первого отечественного имидазолиноустойчивого гибрида для производственной системы Clearfield®.

Методы исследований. Выбранная селекционная стратегия основана на создании гербицидоустойчивого аналога продуктивного гибрида подсолнечника за счет введения гена толерантности к имидазолиномам *Imr* в родительские линии путем серии беккроссов. В работе использовали выращивание растений в полевых условиях и в камерах фитотрона. Скрещивания и самоопыление растений, а также полевые эксперименты проводили принятыми во ВНИИМК способами. Молекулярно-генетические анализы осуществляли с использованием ПЦР. Обработку растений гербицидами выполняли согласно нормативам фирмы BASF для технологии

Clearfield®. Экспериментальные данные обрабатывали общепринятыми методами биометрии.

Научная новизна исследований. Впервые установлено, что потенциальная частота встречаемости доминантных генов гербицидоустойчивости в селекционном генофонде ЦЭБ ВНИИМК оценивается менее чем 5×10^{-6} (1:200000), а в линиях Армавирской опытной станции - менее чем 4×10^{-6} (1:280000). Созданы первые отечественные родительские линии и гибрид подсолнечника Арими, несущие ген устойчивости к имидазолиновым гербицидам *Imr* в гомозиготном состоянии. Гибрид Арими по степени устойчивости к имидазолинонам соответствует международным стандартам.

Практическая значимость работы. Данные об отсутствии гербицидоустойчивых растений в сортах и линиях подсолнечника при широкомасштабном скрининге указывают на целесообразность привлечения доноров гена *Imr* в селекционных программах. Рекомендуется использовать созданный гибрид подсолнечника Арими в товарных посевах по производственной системе Clearfield®, при послевсходовой обработке растений гербицидом Евро-Лайтнинг®, для борьбы с сорняками и болезнью. Использование родительских линий ВК1-ими и ВК21-ими в семеноводческих посевах при их размножении, а также на участках гибридизации, по этой технологии выращивания, позволяет бороться не только с сорняками и болезнью, но и падалицей подсолнечника, что повышает генетическую чистоту получаемых семян. Использование в селекции подсолнечника масличности ядер семян и надземной вегетативной биомассы как фоновых признаков увеличит эффективность отбора при идентификации урожайных генотипов по фенотипу.

Личный вклад автора. Соискатель разрабатывал и реализовывал схему исследований, подбирал материал и методы, выполнял экспериментальную часть работы, собирал необходимые литературные данные; осуществлял статистическую обработку результатов с их интерпретацией и делал выводы.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов, рекомендаций подтверждается необходимым объемом опытов. Вся работа последовательно выполнена в соответствии с обозначенной целью и детализированными задачами. Результаты были получены в ходе полевых и фитотронных экспериментов, а также лабораторных анализов. Проведена необходимая статистическая обработка фактического материала. Выводы логично вытекают из результатов исследований.

Апробация результатов. Материалы исследований были доложены на 4 международной конференции молодых ученых и специалистов "Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур" (ВНИИМК, Краснодар, 27-29 марта 2007 г.), на 5 международной конференции молодых ученых и специалистов "Перспективные направления исследований в селекции и технологии возделывания масличных культур" (ВНИИМК, Краснодар, 3-6 февраля 2009 г.), на 7 международной конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных культур» (ВНИИМК, Краснодар, 19-21 февраля 2013 г.), на 8 международной конференции молодых ученых и специалистов «Конкурентная способность отечественных гибридов, сортов и технологии возделывания масличных культур» (ВНИИМК, Краснодар, 19-20 февраля 2015 г.), на 5 международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований» (Москва, 29-30 августа 2014 г.).

Публикация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 5 - в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, получено 4 патента на селекционные достижения.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты широкомасштабного скрининга селекционного генофонда подсолнечника ВНИИМК по устойчивости к имидазолинонам;
- схема создания и результаты отбора имидазолинонустойчивых аналогов родительских линий подсолнечника на основе беккроссов;
- квалификационный тест гибрида подсолнечника Арими по устойчивости к имидазолинонам с использованием шкалы фитотоксичности гербицида;
- характеристика созданного гибрида подсолнечника Арими по хозяйственно ценным признакам.

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 110 страницах текста в компьютерном исполнении, состоит из введения, 5 глав, выводов, рекомендаций для селекционной практики, списка использованной литературы и приложений. Содержит 16 таблиц и 14 рисунков. Список литературных источников включает 120 работ, в том числе 40 иностранных авторов.

1 БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ИМИДАЗОЛИНОНОУСТОЙЧИВОСТЬ (обзор литературы)

1.1 Подсолнечник как культурное растение

Первые попытки селекционного улучшения подсолнечника были сделаны, вероятно, древними жителями Северной Америки около 2000 лет назад. Во время археологических раскопок обнаружены семена, которые принадлежали однокорзинным растениям и обладали характеристиками, схожими с признаками семян современных сортов [92, 108].

Подсолнечник был привезен в Европу в XVI веке и первоначально служил в качестве декоративного растения и культивировался исключительно в цветниках и ботанических садах [119].

Первое письменное упоминание о подсолнечнике в качестве сырья для получения растительного масла относится к 1818 г. в России. Широкомасштабное использование подсолнечника на масло началось также в России в 1830-х годах [22, 68].

Селекция подсолнечника совпадает с его экспансией как масличной культуры. Примерно в конце XIX века, крестьянская селекция практиковалась в различных регионах России для улучшения имеющихся сортов-популяций подсолнечника [119].

Известно, что крестьяне, особенно в Саратовской и Воронежской губерниях, систематически работали над совершенствованием продуктивных характеристик существующих форм подсолнечника. В результате этой работы, было создано большое количество местных популяций. Преобладающей процедурой был массовый отбор лучших корзинок. Первым признаком, который привлек внимание, была скороспелость. При этом отбирались растения, которые созревали в начале осени, так как их семена лучше убирались и хранились в течение зимы [68, 119].

Начало научной селекции подсолнечника датируется 1912 г., когда будущий академик В.С. Пустовойт начал программу селекции сортов на опытном поле Круглик, г. Краснодар. Первыми методами, применяемыми в селекции подсолнечника, были массовый и индивидуальный отбор на конкретные признаки из существующих локальных популяций. В начале 1920-х годов были созданы большие селекционные центры по подсолнечнику в Краснодаре, Ростове-на-Дону, Харькове, Одессе, Армавире и Саратове [68, 119].

Под руководством В.С. Пустовойта, был разработан метод получения высокоурожайных сортов-популяций, основанный на индивидуальном отборе и резервах семян, который используется в виде циклов периодического отбора [68]. Этот метод был принят другими селекционерами, такими как Л.А. Жданов, В.И. Щербина и др. Используя данный метод, содержание масла в семенах было увеличено с 36 до 52% и повышена устойчивость к заражению, ржавчине и подсолнечной моли. Российские высокоурожайные сорта подсолнечника Передовик, Армавирский 3497, Маяк, ВНИИМК 8931, ВНИИМК 6540, Смена и др. внесли большой вклад в расширение площадей под масличным подсолнечником в мире [119].

Bertero de Romano и Vasquez [84] отмечали, что подсолнечник попал в Аргентину в начале XX века с русскими эмигрантами. Они сообщили, что в период 1929-1930 гг., подсолнечник выращивали в провинции Буэнос-Айрес на площади 4500 га. Селекция подсолнечника началась в Аргентине в 1931 г. в опытном хозяйстве Lana Previsioni в Барроу, провинции Буэнос-Айрес.

Согласно Fick и Miller [93], в Северной Америке на родине подсолнечника первые генетические исследования с этой культурой проводил Cockerell в 1910-х годах, а работы по улучшению подсолнечника для производства силоса проводились в США и Канаде в 1920-е годы.

Как сообщают Fick and Miller [93], селекция подсолнечника в Северной Америке началась в провинции Саскачеван в 1937 г. в Канадском

Департаменте сельского хозяйства, а в 1950 г. - в США, на опытной станции в Техасе. Аналогичные программы были развернуты в то же время на сельскохозяйственных опытных станциях в Миннесоте и Калифорнии.

В связи с созданием российских урожайных сортов подсолнечника с высоким содержанием масла в семенах, в 1960-х годах были начаты программы селекции подсолнечника в ряде европейских стран (Румыния, Болгария, Сербия, Венгрия и Франция). В этих селекционных центрах создано много сортов в сравнительно короткое время [119]. Так, сорта Record и Orizont были получены в Румынии, GK-70 в Венгрии и несколько сортов в Сербии и Болгарии. Luciano and Dawreny (1967) сообщили, что группа сортов (Guayacan INTA, Cordobex INTA, INTA Manfredi, Impira INTA, Klein и др.) были созданы в Аргентине.

Еще один важный шаг вперед в создании сортов подсолнечника был сделан Г.В. Пустовойт [69, 119] при использовании межвидовой гибридизации в селекционном процессе. Она скрестила дикорастущий гексаплоидный *Helianthus tuberosus* L. с сортом культурного подсолнечника ВНИИМК 8931. В результате долгой и кропотливой работы было создано несколько новых сортов, таких как Юбилейный 60, Прогресс, Новинка, Октябрь и др. Эти сорта успешно использовались селекционерами по подсолнечнику во многих частях мира для получения инбредных линий и гибридов, особенно с генами устойчивости к болезням.

Исследование инбридинга и гетерозиса у подсолнечника началось в начале XX века. В крупных обзорных работах отмечается, что Плачек Е.М. получила первые результаты о комбинационной способности и инбридинге в 1915-1930 гг. Позже В.К. Морозов также сообщил данные о диаллельных скрещиваниях инбредных линий. Он нашёл продуктивные гибридные комбинации подсолнечника, но они не могли найти практического применения из-за обоеполости цветков корзинки и отсутствия надежного источника мужской стерильности, вследствие чего не было возможности организовать крупномасштабное производство гибридных семян [22, 119].

Обширные генетические исследования по инбридингу и гетерозису подсолнечника проводились во второй половине XX века большим количеством исследователей. Важные результаты были получены в следующих работах: Бочкарёв [7], Бочковой [9, 10, 11, 12], Nabura [95], Putt [112, 113], Leclercq [102], Škorić [117] и др. Основополагающая роль генетических коллекций культурных растений также общепризнана [15, 16, 17, 53, 57, 72, 77].

Из-за обоеполых цветов подсолнечника были предприняты попытки вызвать искусственную мужскую стерильность раствором гиббереллиновой кислоты, воспользоваться протогинией и частичной цитоплазматической мужской стерильностью. Все они были направлены на практическое использование явления гетерозиса [119]. Однако все эти попытки не смогли решить проблему крупномасштабного производства гибридных семян.

Наиболее интересные и полезные источники ядерной мужской стерильности со сцепленным геном окраски всходов (маркер-антоциан) были обнаружены и изучены Leclercq в 1966 г., Vrânceanu и Stoenescu в 1969 г., Kovačik в 1971 г., Бурлов в 1972 г. и Škorić в 1975 г. [119]. В этих источниках, мужскую стерильность контролировал рецессивный ген, который тесно сцеплен с зеленой окраской гипокотыля у растений. Мужски стерильная линия сохраняется и размножается при постоянных внутрелинейных скрещиваниях. Опыление зеленых растений с рецессивной мужской стерильностью (*tt msms*) гетерозиготными антоциановыми растениями с мужской фертильностью (*Tt Msms*) производит потомство, состоящее на 50% из зеленых мужски стерильных растений и 50% антоциановых мужски фертильных растений.

Эти источники ядерной мужской стерильности сыграли кратковременную роль в производстве гибридных семян подсолнечника из-за трудоемкого удаления антоциановых фертильных растений на участках гибридизации. Тем не менее, гибриды, обладающие этим типом мужской

стерильности, были получены во Франции, Румынии и Сербии, и коммерчески выращивались в течение 3-4 лет [119].

Практическое применение гетерозиса на подсолнечнике началось с открытия стабильного источника цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Он был обнаружен Leclercq в 1969 г. [102] в межвидовом гибриде между культурным подсолнечником и диким *Helianthus petiolaris* Nutt.

Это открытие стало первым условием, необходимым для производства гибридных семян. Вторую предпосылку создал Kinman в 1970 г., который, выделил линии с геном восстановления фертильности из T66006-2-1. Они позже были названы RHA 265 и RHA 266 [98]. Примерно в то же время, другие авторы нашли гены восстановители фертильности пыльцы – Leclercq в 1971 г., Enns в 1972 г., Vrânceanu и Stoenescu в 1971 г. [91, 119]. Важный момент для селекции подсолнечника был связан с получением Fick и Zimmer в 1974 г. линий-восстановителей с рецессивным ветвлением [93]. Это были линии RHA 273 и RHA 274.

После открытия первого надежного источника ЦМС [102] и соответствующего донора восстановления фертильности пыльцы [98] были сформированы государственные и частные селекционные центры для создания гибридов подсолнечника в различных частях мира. Это было время, когда подсолнечник стал важной масличной культурой во многих странах на всех континентах [8, 10, 116, 118].

Здесь следует отметить, что после открытия первого источника ЦМС (PET1), были обнаружены более 70 источников ЦМС, а также гены восстановления фертильности пыльцы для большинства из них. Тем не менее, именно источник ЦМС (PET1) преимущественно используется в большинстве селекционных центров подсолнечника в мире из-за своей стабильности [119].

Для определения оптимальных целей при создании гибридов, селекционеры должны иметь приемлемый уровень знаний в области генетики, селекции и семеноводства [4, 8, 21, 22, 46, 105, 110]. Кроме того,

современные селекционеры должны обладать достаточными знаниями в смежных дисциплинах биологии, таких как фитопатология [5] и энтомология, физиология растений, агрономия и почвоведение, биохимия, а в последнее время, молекулярная биология и статистика [119]. Чтобы быть успешным в реализации селекционных программ, в дополнение к его собственным знаниям, селекционер должен плодотворно сотрудничать с исследователями из других научных дисциплин [116].

Цели селекционных программ подсолнечника варьируют в зависимости от конкретных запросов агропроизводства, но, как правило, они акцентированы на высокую урожайность семян и высокое содержание масла в них [22, 68, 93]. Признаки качества масла, в частности признак высокоолеиновости, также часто включаются в задачи селекции [18, 74]. Что касается высокой масличности семян, то по результатам А.Б. Дьякова (1969), следует иметь в виду, что отбор должен быть направлен на генотипы с высоким содержанием масла в ядрах семян, что позволяет получить максимальный выход масла с единицы площади [31, 119]. Известно, что урожайность является комплексным признаком и для успешного получения высоких урожаев необходимо улучшить ряд особенностей, таких как уборочный индекс, поглотительная способность, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам, скороспелость, способность к адаптации и т.д. [73, 101, 116, 117, 118, 119].

Цели селекции могут также отличаться для различных направлений использования [93]. Для кондитерских гибридов подсолнечника важны крупная семянка и размер ядра, высокая степень отношения ядра к лузге и однородность по размеру, форме и цвету ядра [92, 93].

Jovanović в 2001 г., Chakrapani *et al.* в 1998 г. и Škorić *et al.* в 2006 г. пришли к выводу, что для кондитерского подсолнечника, в дополнение к упомянутым выше свойствам, также важны высокое содержание белка и незаменимых жирных кислот в семенах. Содержание масла в семенах должно быть около 40% и высокая устойчивость масла к окислению

(высокоолеиновые генотипы) [86, 119]. Два важных свойства кондитерского подсолнечника, которые требуют дальнейшего улучшения – простота обрушивания и сохранение качества семян при длительном хранении.

В последнее время, интрогрессия генов устойчивости к гербицидам (имидазолинонам и сульфонилмочевинам) из диких видов *Helianthus* стала актуальной селекционной задачей, как для масличного, так и кондитерского подсолнечника.

Определение идеального типа растений [90] для конкретных агроэкологических условий также является важной задачей в селекции подсолнечника [28]. Так, например, Škorić в 1980 г. разработал модель гибридов для почвенно-климатических условий бывшей Югославии [116]. Физиологические параметры не следует упускать из виду при определении идеального типа растений. Эта модель утверждает, что сухая биомасса должна составлять до 12 т/га, из которых стебли – 4 т/га, листья – 2 т/га, корни – 1 т/га и семена и корзинки – 5 т/га. Корзинка должна иметь, по крайней мере, 1500 трубчатых цветков. Продолжительность жизни листовой поверхности должна быть до 90 дней. Перед бутонизацией, индекс листовой поверхности, должен быть до $3 \text{ м}^2/\text{м}^2$ и это значение должно быть еще выше на стадии цветения. Начиная с этапа бутонизации до стадии цветения, использование солнечного света должно достигать до 2,2%. От фазы цветения до физиологической спелости, синтез масла должен проходить с максимальной интенсивностью, как результат максимальной площади листьев и их фотосинтетической активности. Динамика синтеза белка зависит от количества азота, накопленного ранее в стебле и листьях. Период налива семян должен быть достаточно продолжительным. Корневая система должна быть хорошо развита и эффективно поглощать воду и минеральные вещества из почвы. Корневая зона должна быть $0,3 \text{ м}^2/\text{растение}$ [119]. Низкорослость растений также может рассматриваться как селекционный признак [38, 75].

Основные задачи селекции подсолнечника, для всех ее направлений, должны быть направлены на создание максимального урожая товарной продукции, принимая во внимание также экономию производственных затрат и попытку минимизировать негативные последствия для окружающей среды [39, 40].

Таким образом, современный подсолнечник является новой масличной культурой, созданной в России [68].

В 2013 г. посевные площади, занимаемые подсолнечником в РФ, составили более 7,2 млн. га (около 70% от посевов масличных культур), из них в Краснодарском крае – 457 тыс. га. Валовой сбор семян в РФ достиг 10,2 млн. т, из них в Краснодарском крае – 1,2 млн. т. Урожайность семян в РФ была 1,6 т/га, а в Краснодарском крае – 2,5 т/га. В этом же году в РФ произведено около 3,2 млн. т нерафинированного подсолнечного масла, что составляет около 80% от общего объема производства растительных масел [50].

1.2 Создание межлинейных гибридов подсолнечника

Использование гетерозиса для практических целей началось у подсолнечника гораздо позже, чем на кукурузе и некоторых других полевых культурах. Обоеполость цветков - главная причина, почему подсолнечник, как перекрестно опыляемое растение, позволяет использовать явление гетерозиса только при наличии источника цитоплазматической мужской стерильности и гена восстановителя фертильности пыльцы (*Rf*) [4, 7, 72].

Основное преимущество гибридов над сортами выражается в использовании явления гетерозиса, дающего высокий генетический потенциал урожайности. Превосходство также заметно при облегчении введения генов устойчивости к болезням, которое подтверждается выращиваемыми в мире гибридами, устойчивыми к ржавчине, фомопсису, заразихе и некоторым другим болезням. Гибриды выровнены в отношении

высоты растений и созревания, что значительно снижает потенциальные потери при уборке урожая и повышает возможность получения однородных по влажности семян, что делает их удобными для хранения [118].

Явление гетерозиса используется для создания следующих гибридов подсолнечника: простых, трехлинейных и двойных. Практически, селекционеры в основном занимаются созданием простых, значительно меньше трехлинейных и очень редко двойных гибридов [10, 118].

Наиболее важная цель селекции подсолнечника состоит в увеличении урожайности, а также его устойчивости (адаптивности), содержания масла в семенах и его качества, уборочного индекса, способности потреблять минеральные вещества, устойчивости к основным болезням и вредителям, скороспелости, прочности стеблей, компактности габитуса, привлекательности для опылителей, толерантности к абиотическим факторам, устойчивости к гербицидам, а также ряду других факторов [22, 117].

Процесс создания гибридов подсолнечника занимает несколько этапов. Первый этап заключается в создании инбредных линий из генетически разнородного материала. Процесс создания инбредных линий состоит из двух подэтапов: создания В-линий и линий-восстановителей (*Rf*). Одновременно происходит скрининг этих линий на устойчивость к болезням, насекомым, засухе, по качеству масла, толерантности к гербицидам и др. Процесс создания инбредных В-линий сопровождается их переводом в ЦМС форму, в то время как линии-восстановители, в случае, если они однокорзинные, превращают в рецессивно ветвистые формы [10, 11, 76].

Оценка комбинационной способности будущих инбредных линий происходит на ранних стадиях их создания. Прежде всего, общая комбинационная способность (ОКС) проверяется с помощью тест-гибридов, а затем оценивается специфическая комбинационная способность (СКС) на завершающих этапах инбридинга.

Fick и Miller в 1997 г. утверждали, что первые селекционеры по подсолнечнику признавали важность получения инбредных линий с заданными желательными характеристиками, используемыми для создания синтетических сортов или гибридов [93]. Гундаев А.И. в 1964 г. установил, что использование инбридинга для анализа популяций подсолнечника позволяет выделять большое количество рецессивных признаков (альбинизм, отсутствие панцирного слоя, мужская стерильность и другие нежелательные признаки) [22, 119]. Известно, что российские исследователи, использующие инбридинг в период между 1930 и 1940 гг., пришли к выводу, что он сам по себе оказывает депрессивное влияние на различные характеристики подсолнечника, в первую очередь, уменьшая высоту растений и урожай семян [119].

Schuster в 1964 г. наиболее детально исследовал влияние инбридинга на экспрессию различных признаков подсолнечника [119]. Он достиг значительных результатов, рассматривая влияние инбридинга на признаки в период 1948-1959 гг. на материале поколений S_0 - S_{12} . Инбридинг влиял на уменьшение урожайности семян в процентах, где в S_0 она была 100 %, а на этапе S_{12} только 25 %. Депрессивное влияние было также показано по высоте растений, особенно в поколениях S_4 - S_6 . Также оно проявлялось в уменьшении диаметра корзинки, увеличении доли лузги, уменьшении масличности семян, повышении процента не опыляемой центральной части корзинки, а также в депрессивном влиянии на другие признаки.

Кроме того, Schuster также провёл интересное исследование о взаимосвязи между урожайностью семян в поколениях S_0 - S_{12} с другими характеристиками. Урожай семян в ряду поколений инбридинга находился в положительной корреляции с высотой растений, диаметром корзинки и, для большинства поколений, с масличностью. В то же время наблюдалась отрицательная корреляция с инбредной депрессией.

Kovačik и Škaloud в 1974 г. установили значительное влияние инбридинга на снижение, в первую очередь, урожая семян и массы 1000

семян. Депрессивные эффекты инбридинга для различных признаков подсолнечника затем были подтверждены этими же авторами в 1975 г., одновременно с последующим эффектом гетерозиса у простых гибридов [101].

Для получения инбредных линий подсолнечника могут быть использованы следующие источники: местные популяции, сорта-популяции, межвидовые гибриды, линии, синтетические популяции, а также специальные генофонды [118].

Fick и Miller в 1989 г. пришли к выводу, что наиболее распространенными методами селекции при получении инбредных линий являются метод педигри, массовый отбор, метод односемянного потомства и возвратные скрещивания [119]. Все эти методы используются для увеличения генетической изменчивости исходного материала.

Согласно продолжительным исследованиям, В.В. Кириченко в 2005 г. утверждает, что лучший материал для получения инбредных линий с высоким урожаем семян и масла – это сорта, созданные В.С. Пустовойтом, Л.А. Ждановым и их последователями [119]. Škorić в 1975 г. пришел к аналогичным выводам [118].

Создание стабильных инбредных линий требует, по крайней мере, 6-8 поколений инбридинга. Если мы примем во внимание, что В-линии нуждаются в преобразовании в ЦМС форму с помощью насыщающих скрещиваний, можно сделать вывод, что селекционеры имеют долгосрочные задачи. Поэтому необходимо использовать так называемое «зимнее поколение» в регионах мира, где это возможно, чтобы получить два поколения в год в естественных условиях. Ускорение процесса селекции может быть также достигнуто с помощью теплицы или камер искусственного климата. Процесс создания инбредных линий может быть ускорен с помощью некоторых методов биотехнологии, например, хромосомного дублирования гаплоидов [39, 40, 119].

Pistolesi *et al.* в 1986 г. провели интересное наблюдение с целью ускорения процесса селекции. Они предложили выращивать селекционный материал подсолнечника в камере искусственного климата в условиях стресса (непрерывное освещение и ограничение объема почвы). Реализация этого метода может обеспечить, по крайней мере, три поколения селекционного материала в год. При этом происходит снижение размеров растений, что позволяет выращивать 250 растений на м² и, кроме того, ликвидировать протерандрию. Таким образом, происходит перекрестное опыление без химической или механической кастрации [111].

Выбраковка нежелательного материала (низкая масличность и автофертильность, неудовлетворительная форма корзинки, неприемлемый наклон корзинки, отсутствие защитного панцирного слоя в лузге, восприимчивость к болезням и вредителям и другие нежелательные характеристики) должна состояться в начальных поколениях инбридинга (S_0 - S_1 или F_2 - F_3). Вот почему необходимо иметь, по крайней мере, 30-100 растений (на каждый номер) исходного материала на ранних этапах инбридинга [10, 11, 72, 119].

Изоляция растений осуществляется пакетами из пергаментной бумаги, ткани и синтетического материала, который устойчив к ультрафиолетовому излучению и обеспечивает необходимую пористость (без возможности проникновения пыльцы в обоих направлениях). Размеры изоляторов отличаются для В и *Rf* линий. Изоляторы В-линий наиболее часто имеют размер 40×10×50 см и для отцовских линий 30×10×40 см. Для скрещивания (А × В) используются изоляторы 40×80 см из синтетических материалов с определенным уровнем прозрачности для визуального контроля цветущих корзинок [10, 11, 119].

Семена отобранных растений в поколениях S_1 или F_2 выращиваются в следующем поколении по 20-50 растений. В период вегетации проводятся фенологические наблюдения. В процессе получения инбредных линий, начиная с S_2 или F_3 поколений, особое внимание уделяется следующим

признакам: продолжительность периода вегетации; высота растений; количество семян на растении, то есть автофертильность; форма и размер корзинки; наклон корзинки на стебле; натура семян; масса 1000 семян; лужистость семян; соотношение лужги и ядра; защитный фитомелановый слой; содержание масла и белка в семенах и их качество (жирные кислоты и аминокислоты); устойчивость к биотическим стрессам (болезням и насекомым); устойчивость к абиотическим стрессам (засухе, высоким и низким температурам); привлекательность для насекомых-опылителей; устойчивость к определенным гербицидам [80, 116, 117, 119].

Также возможно вести отбор на другие признаки в процессе получения инбредных линий, например, в случае линий-восстановителей - на рецессивное ветвление и т.д. Некоторые селекционеры проводят отбор растений для изоляции в соответствии с их фенотипическими характеристиками по потомкам (линиям) начиная с S_1 поколения [119].

При создании инбредных линий необходимо определять содержание масла в семенах методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР), который позволяет дальнейшее использование семян (неразрушающий метод). В процессе получения инбредных линий важно знать особенности депрессивного влияния инбридинга на изучаемые признаки [11].

Одновременно с получением В-линий, необходимо преобразовать их ЦМС-форму и оценить их общую комбинационную способность. Shein в 1978 г. разработал процедуру начала конверсии будущих линий в ЦМС-форму еще в поколении S_0 , и одновременную оценку их общей комбинационной способности [119]. Это означает, что при правильном отборе будущих В-линий и их преобразования в ЦМС форму, есть два процесса, происходящих одновременно: инбридинг с преобразованием в ЦМС и оценка общей комбинационной способности. Именно поэтому с ранних поколений инбридинга целью получения В-линий является также скрещивание с источником ЦМС, и с помощью беккроссов будущие линии преобразуются в ЦМС-форму. Этот процесс требует, по крайней мере, 5-6

скрещиваний, чтобы получить две аналогичные формы: фертильную линию (В) и ее стерильный аналог (А) [10].

Одновременно с преобразованием в ЦМС-форму и процессом инбридинга, проводятся тест-скрещивания с лучшими линиями-восстановителями для оценки общей комбинационной способности в сравнительном эксперименте в поле.

Важная роль в получении перспективных гибридов подсолнечника отводится точной оценке инбредных линий по их общей и специфической комбинационной способности [10]. Выбор инбредных линий с высоким значением комбинационной способности связан с большим количеством трудностей, так как не существует идеального метода, который позволяет точно оценить эти способности.

Оценка донорской способности линий путем изучения их комбинационной способности имеет большое значение. Каждый селекционер по подсолнечнику в мире анализирует комбинационную способность, по меньшей мере, около 100 инбредных линий ежегодно [119].

Селекция – наукоёмкий сложный технологический процесс и достижение результата требует знаний о природе растений и принципах этого процесса [22, 29, 30, 31, 32]. Оценка комбинационной способности в процессе селекции представляет собой особенно важный этап. Кроме того, существенное значение для реализации эффекта гетерозиса у подсолнечника в различных почвенно-климатических условиях имеет взаимодействие генотип-среда, модифицирующее технологию выращивания [33, 34, 35, 36, 41, 49, 58].

При оценке комбинационной способности инбредных линий используют различные методы, такие как поликросс, топ-кросс и диаллельные скрещивания. Способ топ-кросса часто применяется, когда предметом оценки является большое количество новых инбредных линий, или на ранних стадиях создания инбредных линий. С другой стороны,

диаллельные скрещивания в основном используются, когда участвует меньшее количество инбредных линий [116, 117, 118].

Miller в 1987 г. полагает, что в случае новых инбредных линий, полученных с помощью различных методов селекции, оценка их комбинационной способности должна происходить в поколениях F_4 или F_5 . Тем не менее, некоторые авторы предлагают оценку комбинационной способности в более ранних поколениях инбридинга [119].

Оценка инбредных линий и их общей комбинационной способности (ОКС) производится путем применения методов поликросса и топ-кросса, в то время как оценка специфической комбинационной способности (СКС) наиболее часто производится с использованием диаллельных скрещиваний.

Оценка комбинационной способности новых материнских линий обычно производится на 2-3 линиях-восстановителях, которые являются компонентами районированных или перспективных гибридов с хорошей общей комбинационной способностью. Работая с В-линией, не преобразованной в ЦМС-форму, необходимо вызвать искусственную мужскую стерильность с использованием раствора гиббереллиновой кислоты (GA_3) в начале бутонизации [119]. Произвести тест-кроссы с ЦМС-формой В-линий легко, если используется пыльца от 2-3 элитных линий-восстановителей.

Miller в 1987 г. утверждал, что оценка комбинационной способности может быть проведена с помощью трехлинейных гибридов. В этом случае ЦМС (А) линии могут служить в качестве тестера. Простой стерильный гибрид скрещивают с линией, которая обладает генами восстановителями. С другой стороны, оценка комбинационной способности В-линий также может быть сделана путем использования скрещивания ЦМС (А) \times В. При этом стерильные простые гибриды (SC) выращиваются с фертильными гибридами F_1 , которые позволяют произойти опылению в полевых сравнительных экспериментах [108].

Škorić в 1989 г. предполагал, что если есть необходимость изучить общую комбинационную способность у большого количества Б-линий в процессе получения (F_3 - F_4) эффективно использовать пространственный изолятор (3 км), для выращивания Б-линий и линии-тестера с применением системы один ряд линии и один ряд тестера. Искусственная мужская стерильность для Б-линий вызывается раствором гиббереллиновой кислоты (0,16%) [116].

Насекомые (пчелы) и ветер опыляют линии с помощью пыльцы тестера для получения достаточного количества гибридных семян. В следующем году гибриды топ-красса выращивают в сравнительном эксперименте, который включает в себя контрольные гибриды из массового производства подсолнечника. Оценка общей комбинационной способности производится по результатам урожая семян, содержания масла в семенах, урожайности семян на гектар и других важных агрономических признаков [10].

В развитых селекционных программах, когда имеется много А-линий, общая и специфическая комбинационная способность могут быть рассмотрены одновременно. Škorić в 1989 г. предлагает делать это следующим образом: 5-10 элитных линий-восстановителей с хорошей ОКС отбираются и выращиваются в изоляции на отдельных полях. Все имеющиеся ЦМС-линии выращивают с каждым восстановителем на отдельных изолированных полях. Пчелы и другие опылители производят опыление. Семена, полученные от топ-кроссных гибридов, выращивают в сравнительных экспериментах совместно с лучшими коммерческими гибридами. Анализ полученных результатов служит источником оценки ОКС и СКС изучаемых инбредных линий (ЦМС + Rf) [118].

Некоторые исследователи делают акцент на необходимости изучения достаточного количества тест-гибридов (около 1000), что позволяет дать надежную оценку донорских особенностей отдельно для отцовских и материнских линий, что очень важно для отбора на гетерозис у

подсолнечника. Кроме того, можно сделать оценку отдельных блоков исходных форм в соответствии с их происхождением [119].

Анализируя достижения в селекции подсолнечника в Аргентине в период 1930-1995 гг., *Periere et al.* в 2000 г. пришли к выводу, что высокий потенциал урожая семян созданных линий, связан с увеличением биомассы в течение налива семени, уборочного индекса, количества семян, отношения ядра к лузге и концентрации масла в ядре [119].

Современные статистические анализы и компьютерные технологии позволяют селекционерам использовать быстрый, качественный анализ полученных результатов в процессе производства гибридов [39].

Новые методы биотехнологии и особенно использование маркерных генов для определения генетической дивергенции инбредных линий, позволяют селекционерам установить особенности доноров и селекционную ценность новых линий быстро и с минимальными затратами, которые включаются в производство гибридов [40, 46].

Fick и Miller в 1997 г. указывали, что при создании лучших инбредных линий, необходимо оценивать коррелятивное проявление признаков в гибридах [119]. Schuster в 1964 г. установил, что для создания инбредных линий очень важно сделать соответствующий отбор исходного материала. Он установил существование значительной положительной корреляции высоты растений, урожайности и масличности семян между исходными популяциями, отцовскими и материнскими линиями и их гибридами F_1 .

Škorić в 1982 г. описал сильную корреляцию между родительскими линиями и их гибридами F_1 по высоте растений и содержанию масла в семенах, а также урожайности семян, количеству листьев на растении, площади листьев и проценту лузги. Он же пришел к выводу, что гибриды F_1 имеют более значимую корреляцию для урожая семян с гектара и содержанием масла в семенах с материнскими линиями, чем с отцовскими [117].

Miller *et al.* в 1982 г. утверждали, что множественный регрессионный анализ показал, что 50,5 % изменчивости масличности гибридов может быть объяснено отличиями масличности по материнской линии [119].

Изучая корреляцию между родительскими линиями и их гибридами F_1 , Manivannan *et al.* в 2004 г. пришли к выводу, что связь между днями до 50 % цветения и габитусом растений, между высотой растений и диаметром корзинки, а также между диаметром соцветия и урожаем семян показали значительную положительную корреляцию [105].

Joksimović в 1992 г. установил положительную корреляцию между F_1 и материнскими линиями для сухого вещества листьев и процента оплодотворения. С другой стороны, существует положительная корреляция между отцовскими линиями и их гибридами F_1 по высоте растений, площади поверхности листьев, массе сухого вещества в стеблях, массе сухого вещества в корзинках и массе сухого вещества из вегетативных частей растений [118].

Рассматривая отношения между признаками инбредных линий и гибридов подсолнечника, Miller *et al.* в 1982 г. сделали вывод, что значительные положительные корреляции были найдены между масличностью семян гибридов и содержанием масла в семенах F_4 , F_5 и F_6 линий [119]. Авторы также пришли к выводу, что существует преимущественное наследственное влияние материнской линии по содержанию масла в семенах гибридов.

Кроме того, описана достоверная корреляция между количеством семян на растение и массой 1000 семян с количеством пыльцы, и они могут быть использованы в качестве критериев отбора при создании линий-восстановителей. Эти данные также говорят о положительной корреляции этих признаков между линиями-восстановителями и их гибридами F_1 .

Вышеуказанные результаты помогают селекционерам разрабатывать стратегии создания новых инбредных линий и получения гибридов.

1.3 Селекция подсолнечника на устойчивость к имидазолиномам

Химический способ борьбы с сорняками на посевах сельскохозяйственных культур остается важным элементом агротехнологий [13, 14, 19, 47, 51, 56, 106]. Использование гербицидов позволяет сохранять достигнутый селекцией биологический потенциал урожайности культурных растений [42, 43, 44, 45, 48, 54, 79]. Минимизация нежелательных последствий применения гербицидов также находится в области изучения [65, 67, 70, 71, 78].

В последнее десятилетие значительные результаты были достигнуты в селекции подсолнечника на устойчивость (толерантность) к гербицидам из класса имидазолинонов. Ацетолактатсинтаза (ALS), также называемая AHAS, представляет первый фермент в биосинтезе трех жизненно важных аминокислот у растений: валина, лейцина и изолейцина. Четыре различных класса гербицидов ингибируют ALS, тем самым вызывая гербицидный эффект [37].

Наиболее распространенными являются имидазолиноны. Они широко используются с момента их появления в начале 1980-х годов, и теперь представляют собой один из основных методов борьбы с сорняками для многих сельскохозяйственных культур [37].

Восприимчивость может быть связана с отсутствием метаболической детоксикации гербицида. К преимуществам ALS-ингибирующих гербицидов относятся: очень низкий расход и широкий спектр контролируемых сорняков. К недостаткам относится то, что широкое использование культур с этим признаком привело к появлению устойчивости у многих видов сорняков [96, 107, 120]. Несколько генов могут быть вовлечены в контроль устойчивости и они являются частично доминантными [100]. В этих случаях, все родительские линии должны быть устойчивы для достижения коммерчески допустимой устойчивости гибрида (удорожание процесса

селекции). Более того, из-за перекрестной резистентности, точность технологии применения гербицидов должна быть скорректирована.

Устойчивость к имидазолинононам (имазапир, Персуит) впервые была выявлена у дикорастущего подсолнечника *Helianthus annuus* L. в Канзасе, США в 1996 г. на соевом поле, обрабатываемом гербицидом в течение семи лет подряд [81, 109]. Дикорастущий подсолнечник является сорняком в посевах сои в США [94].

Miller и Al-Khalib в 2000 г. сообщили, что исследовательская группа USDA-ARS (NDSU) перенесла эту генетическую устойчивость в культурный подсолнечник и выпустила публичные IMISUN-линии в 1998 г. В это же время, Alonso *et al.*, исследователи Института полевых и овощных культур из г. Нови-Сад, Сербия и несколько частных компаний в Аргентине перенесли ИМИ-устойчивость от дикой популяции *H. annuus* L. из Канзаса в их собственные элитные линии и создали первые ИМИ-устойчивые гибриды [109].

Malidža *et al.* в 2000 г. сообщили, что устойчивость к имидазолинонам от дикого *H. annuus* L. из Канзаса передана в элитную линию НА-26 с помощью трех поколений в год (один в поле и два в теплице). Они заявили, что устойчивость контролировалась одним частично доминантным геном. Кроме того, имидазолинонотолерантный материал был чувствителен к ряду гербицидов на основе сульфонилмочевины (хлорсульфурон, просульфурон, римсульфурана и оксасульфурон) [104].

Alonso *et al.* в 1998 г. были одними из первых в мире, передавших гены дикого *H. annuus* L. из популяций, собранных в Канзасе, в культивируемые генотипы подсолнечника, устойчивые к гербициду имазапир, который также эффективно уничтожал заразиху, паразитирующую на подсолнечнике [25, 60, 61, 82, 89, 97, 99].

Изучая наследование устойчивости к имидазолиноновым гербицидам в поколении F₂ и ВС популяциях, Bruniard и Miller в 2001 г. пришли к выводу, что устойчивость контролируется двумя генами. Главный ген имеет

полудоминантный тип действия (*Imr1*), а второй ген является модификатором (*Imr2*) в присутствии главного гена. Устойчивость у подсолнечника может быть достигнута только при гомозиготности обоих генов (*Imr1Imr1*, *Imr2Imr2*) в инбредной линии или в гибриде [85].

При работе с ВС поколениями по ИМИ-устойчивости, рекомендуется использовать рекуррентного родителя в качестве матери, а F_1 и ВС - как отца. Затем, самоопыление растений-доноров (F_1 и ВС) приведёт к получению гомозиготных генотипов в следующем поколении. Эти гомозиготные растения могут быть использованы для создания новых ИМИ-устойчивых линий (от F_1 или ранних поколений ВС) [23, 24].

В течение 15 дней после обработки можно фенотипически различать растения четырех классов: устойчивые, промежуточные с небольшим пожелтением (хлорозом) листьев, промежуточные с сильным пожелтением и погибшие растения (восприимчивые) [27, 64].

При селекции ИМИ-устойчивого подсолнечника, следующие положения о применении гербицидов рекомендуются для скрининга селекционного материала: для гетерозиготных поколений (F_1 , ВС) однократная доза ИМИ-гербицида в полевых условиях и 0,5 доза для тестирования в теплице; для гомозиготных поколений (F_2 - F_n) двукратные дозы ИМИ-гербицида в полевых условиях и однократные дозы в теплице [24, 64].

Лучшей фазой для обработки растений ИМИ-гербицидами является этап 3-5 пар настоящих листьев [115]. Обработка гетерозиготных растений в фазу бутонизации может вызвать гаметоцидный эффект для пыльцы [26]. Важные параметры при этом: достаточное количество воды, используемое для разбавления гербицида в полевых условиях, скорость движения опрыскивателя (5 км/ч) и однородность обработки [103].

Введение генов устойчивости к гербициду от дикого *H. annuus* L. в элитные В или *Rf* линии осуществляется путем возвратных скрещиваний при

постоянном скрининге устойчивости и устранении восприимчивых пожелтевших растений.

Sala *et al.* в 2008 г. сообщили, что они получили новый источник ИМИ-устойчивости, *CHLA-PLUS*, разработанный с помощью индуцированного мутагенеза. Эта линия была получена после обработки семян мутагеном этилметансульфонатом и отбором растений с гербицидом имазапир. Кроме того, авторы доказали на молекулярном уровне, что *CHLA-PLUS* отличается от *Imr1* и что оба они являются аллельными вариантами локуса *AHASL1* [114, 119].

Было экспериментально показано, что ген *CHLA-PLUS* имеет более высокую степень ИМИ-устойчивости, чем гены *Imr1* и *Imr2*. Селекционные центры, желающие воспользоваться генами *CHLA-PLUS* в исследовательских или коммерческих целях должны подписать контракт на его использование с компанией BASF [119]. В то же время, BASF обеспечивает документальную методику для скрининга устойчивости на молекулярном уровне (CLEARFIELD[®] Protocol SF30).

Недавно созданная в 2003 г. производственная система для подсолнечника CLEARFIELD[®] (торговая марка BASF) предоставляет новую агротехнологию, которая обеспечивает при послевсходовой обработке контроль над широким спектром сорных растений, включая заразику, в сочетании с высокопродуктивными гибридами подсолнечника от ведущих семенных компаний или государственных учреждений [63].

Корпорация BASF также установила систему тестирования, которая регулирует пригодность ИМИ-устойчивых гибридов подсолнечника для технологии CLEARFIELD[®], основанную главным образом на относительной устойчивости по сравнению со стандартным квалификационным гибридом.

Эффективность борьбы с сорняками с помощью ИМИ-устойчивых гибридов и гербицидов из группы имидазолинонов была подробно рассмотрена Al-Khatib и Miller в 2002 г. [119].

Malidža *et al.* получили интересные результаты, используя Пульсар 40 в дозе 1,2 л/га в сети испытаний, проведенных в Сербии в 2000-2003 гг. Было обнаружено, что Пульсар 40, эффективно контролирует *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Amaranthus blitoides*, *Ambrosia artemisiifolia*, *Chenopodium album*, *Daturas tramonium*, *Echinochloa crusgalli*, *Polygonum convolvulus*, *Polygonum persicaria*, *Sinapis arvensis*, *Solanum nigrum*, *Xanthium strumarium*, *Setaria glauca*, *Setaria viridis*, *Setaria verticillata* и *Sorghum halepense*, но не было эффективности в уничтожении *Hibiscus trionum* и *Convolvulus arvensis*. Имазамокс прекращал рост многолетних сорняков в течение 2-4 недель после обработки (*Sorghum halepense* из корневищ и *Cirsium arvense*), что значительно снижает их негативное влияние на рост подсолнечника [103, 104].

После допуска имидазолинонового гербицида Евро-Лайтнинг® к использованию в России в 2007 г., агротехнология CLEARFIELD® была разрешена в нашей стране при выращивании подсолнечника с участием ИМИ-устойчивых гибридов [37, 63]. В этом же году первый импортный гибрид сербской селекции Римисол уже был внесён в госреестр допущенных к использованию в России. К 2013 г. все крупные зарубежные селекционно-семеноводческие компании имели зарегистрированные в России гибриды подсолнечника, устойчивые к имидазолинонам. При этом подобные отечественные селекционные достижения в Госреестре до 2014 г. отсутствовали.

Первые шаги по изучению признака устойчивости подсолнечника к имидазолинонам в России были предприняты во ВНИИ масличных культур им. В.С. Пустовойта начиная с 2003 г. [23]. Было установлено, что в генофонде культурного подсолнечника не обнаружено признака устойчивости к имидазолиновым гербицидам. Интродуцированные из США линии НА425 и РНА426 подтвердили свою резистентность, которая определялась основным геном с частичным доминированием. При скрещивании этих источников с элитными линиями ВНИИМК с дальнейшим

инбридингом и отбором устойчивых растений получен первый отечественный исходный селекционный материал [23, 59, 62, 87]. Кроме того, подтверждено явление гибели цветкового паразита заразики при обработке гербицидоустойчивых растений подсолнечника гербицидом Пульсар [25, 60, 61, 88].

В другом исследовании с целью ускорения селекционного процесса описан эффективный метод отбора гетерозиготных ИМИ-устойчивых растений подсолнечника в расщепляющемся беккроссном потомстве в условиях камер фитотрона за счет снижения дозы гербицида до 0,5х [24].

Таким образом, необходимость создания первых отечественных гибридов подсолнечника, устойчивых к имидазолинонам, представляла собой крайне актуальную проблему.

2 УСЛОВИЯ, МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Почвенно-климатические условия проведения опытов

Экспериментальная база Армавирской опытной станции ВНИИМК, где проводились исследования, расположена в равнинной части восточной зоны Краснодарского края. Климат умеренно-континентальный, с недостаточным увлажнением [1].

Рельеф – волнистая равнина. Почвенный покров опытной станции представлен черноземом типичным и обыкновенным малогумусным тяжелосуглинистым, сформированным на лессовидном карбонатном суглинке. Мощность гумусового горизонта составляет 90-110 см. Содержание гумуса в пахотном слое колеблется от 4,2% до 4,8%, в подпахотном - 3,7% до 4,2%. Характерной особенностью лессовидных суглинков является высокое содержание карбонатов (10-17%), валового фосфора (0,1-0,2%) и незначительное количество водорастворимых солей (0,08-0,15%). Общая скважность пахотного слоя 60-65%, физической глины до 40% [66].

Нитрификационная способность почвы ($N-NO_3$) в среднем составляет 26 мг/кг почвы, рН солевой вытяжки почвы нейтральная – 6,40. Среднее содержание гумуса в пахотном слое 4,13 %, подвижного фосфора (P_2O_5) – 28,0 мг/кг почвы, обменного калия (K_2O) – 359 мг/кг почвы, подвижной серы – 3,96 мг/кг почвы, марганца – 13,1 мг/кг почвы, цинка – 0,80 мг/кг, меди – 0,08 мг/кг, свинца – 0,28 мг/кг, кадмия – 0,03 мг/кг. Обеспеченность марганцем, цинком и медью – низкая, содержание тяжелых металлов не превышает ПДК [55].

Зона характеризуется неустойчивым, часто недостаточным увлажнением. Годовая сумма осадков, по многолетним данным, составляет в среднем 590,3 мм, выпадающих в течение года неравномерно. Осадков за теплый период выпадает 350-470 мм – преимущественно в виде ливней [6]. Грунтовые воды залегают глубже 10 м и практического влияния на формирование урожая сельскохозяйственных культур не оказывают [66].

Среднесуточная температура по среднемноголетним данным – 10,5 °С. Сумма эффективных температур за вегетационный период составляет 3450°С. Продолжительность безморозного периода 180-190 дней. Зима неустойчивая, умеренно мягкая. Число дней с оттепелями – 50-60. Последующие после оттепелей похолодания часто наступают без выпадения снега, что резко ухудшает условия дальнейшей перезимовки озимых культур. Лето жаркое и сухое.

Господствующими ветрами в районе расположения опытной станции являются восточные и юго-восточные. В зимние месяцы они приносят холодные массы воздуха, способствующие установлению морозной погоды, сдуванию снега с полей и вымерзанию посевов. Характерной особенностью является частое проявление восточных ветров в весенний и летний периоды, вызывающих пыльные бури и суховеи (число дней с суховеями составляет 15-35), что негативно сказывается на процессе созревания семян [6].

Погодные условия в годы проведения исследований.

Годовое количество выпавших осадков за 2005 год составило 475,1 мм, что ниже среднемноголетней нормы на 19,5 %. Количество выпавших осадков за вегетационный период подсолнечника было ниже среднемноголетней нормы на 60 % и составило 152 мм. В июне месяце, который пришелся на период до цветения, количество выпавших осадков составило 22,5 мм, что ниже многолетнего значения на 70 %. Среднесуточная температура за 2005 год составила 11,8 °С, что на 12,4 % выше среднемноголетних значений. Температура воздуха в начальный период роста и развития растений (май) превышала среднемноголетнее значение на 1,3 °С, а в конце развития культуры (август) на 1,8 °С.

Годовое количество осадков выпавших за 2006 год составило 768,2 мм, что выше среднемноголетних значений на 19,5 %. За вегетационный период подсолнечника количество выпавших осадков составило 285 мм, что выше среднемноголетней нормы за данный период на 12 %. В период до цветения (июль) количество осадков превысило среднемноголетний показатель на 49%

и составило 81 мм. В период от цветения до созревания, который пришелся на конец июля – август месяц, количество выпавших осадков составило 3 мм, что значительно повлияло на формирование урожая. Среднесуточная температура за 2006 год составила 11,9 °С, что на 13,3 % выше средне многолетних значений.

Годовое количество выпавших осадков за 2007 год составило 438,1 мм, что ниже средне многолетних значений на 25,8 %, количество выпавших осадков за вегетационный период подсолнечника составило 167,1 мм, что ниже средне многолетней нормы за данный период на 34 %. Среднесуточная температура за 2007 год составила 12,3 °С, что на 17,1 % выше средне многолетних значений. Температура воздуха за вегетационный период растений превысила средне многолетнее значение на 2,35 °С.

Годовое количество выпавших осадков за 2008 год составило 570,8 мм, что ниже средне многолетней нормы на 3,5 %. Распределение их в течение вегетации культуры было неравномерным. Наиболее острый дефицит осадков в период вегетации культур отмечался в июне месяце (-48 % от средне многолетней). В августе количество выпавших осадков было ниже средне многолетней нормы на 80 % и составило 11,1 мм. В сентябре, октябре и ноябре количество выпавших осадков превысило средне многолетнюю норму на 17, 7 и 23 % и составило 52,1, 45,1 и 59,4 мм соответственно. Среднесуточная температура за 2008 год превысила средне многолетнюю на 1,0 °С и составила 11,5 °С. Среднемесячная температура воздуха в марте и апреле составила 9,4-13,7 °С, что превысило средне многолетнюю на 6,2 и 2,4 °С, в мае и июне она была ниже многолетнего показателя на 1,7-0,5 °С и составила 15,0-19,6 °С.

Годовое количество выпавших осадков за 2009 год составило 702,8 мм, что выше средне многолетней нормы на 19,0 %. Больше количество осадков выпало в январе-марте – на 27,5-43,9 %, в мае – на 48,6 % (или на 32,2 мм), в июне – чуть более двойной нормы, в сентябре – на 46,5 %. Наибольший дефицит осадков наблюдался в апреле и в октябре, т.к. их количество составило соответственно 27,7 и 61,8 % от нормы. Распределение осадков, особенно в весенне-летний

период, было неравномерным. Среднесуточная температура за 2009 год составила 11,85 °С и превысила среднемноголетнее значение на 1,35 °С. Среднемесячная температура воздуха в феврале и марте была на 5,2 и 2,3 °С выше среднемноголетней, в июне, июле и октябре – выше от 1,6 до 4,1 °С. Вместе с тем, ниже среднегодовых значений, наблюдалась температура в апреле (на 2,2), в мае (на 1,6) и в августе – на 1,9 °С. В отдельные числа второй декады апреля ночные температуры опускались до -6 °С.

Годовое количество выпавших осадков за 2010 год составило 605 мм, что незначительно выше среднемноголетней нормы. Большее количество осадков выпало в марте – на 49 мм и в июне – на 23,9 мм больше среднемноголетней нормы. Наибольший дефицит осадков наблюдался в июле и в августе, на 43,7 и 25,6 мм меньше от нормы. Что значительно повлияло на формирование урожая подсолнечника. Среднесуточная температура за 2010 год составила 13,3 °С и превысила среднемноголетнее значение на 2,8 °С. Ниже среднемноголетних значений, температура в этом году не опускалась. Самая высокая среднемесячная температура воздуха наблюдалась в июле и августе, и составляла 26,0 и 26,8 °С соответственно, что на 3,3 и 4,7 °С выше среднемноголетней. Высокая температура воздуха, почвенная и воздушная засуха в период цветения – созревание подсолнечника привели к снижению урожая и качества семян. Высокая температура в сочетании с выпавшими осадками в середине августа способствовали высокому проявлению болезней, в частности сухой гнили.

Годовое количество выпавших осадков за 2011 год составило 730,2 мм, что выше среднемноголетней нормы на 24,0 %. Большее количество осадков выпало в марте – на 96,0 %, в мае – на 38,7 %, в июне – на 127,2 % (чуть более двойной нормы), в августе – на 39,3 % и в октябре – на 93,5 % больше среднемноголетних данных. Наибольший дефицит осадков наблюдался в июле и в сентябре, т.к. их количество составило соответственно 54,7 и 69,8 % от нормы. Среднесуточная температура за 2011 год составила 10,3 °С, что на уровне среднемноголетних значений. Среднемесячная температура воздуха в феврале была на 2,0 °С, в

апреле на 1,0 °С, в ноябре на 5,6 °С ниже среднемноголетней, в июле и ноябре – выше на 2,6 и 2,8 °С соответственно. Большое количество осадков в июне повлияло на увеличение биомассы и высоты растений подсолнечника, при этом дефицит осадков в июле отрицательно сказался на продуктивности.

Годовое количество выпавших осадков за 2012 год составило 644,8 мм, что выше среднемноголетней нормы на 9,2 %. Большее количество осадков выпало в мае – на 159 и в октябре – на 135 % больше среднемноголетних данных. Дефицит осадков наблюдался в феврале, сентябре и октябре, т.к. их количество составило соответственно 41,9, 25,6 и 7,2 % от нормы. Среднесуточная температура за 2012 год составила 11,8 °С, что на 12,4 % выше среднемноголетних значений. Среднемесячная температура воздуха в феврале на 4,9 °С и в марте на 1,9 °С была ниже среднемноголетней, с апреля до декабря – выше среднемноголетних значений. Большое количество осадков в мае повлияло на поражение подсолнечника ложной мучнистой росой. Большое количество осадков в августе повлияло на увеличение продолжительности вегетационного периода подсолнечника.

Годовое количество выпавших осадков за 2013 год составило 592,4 мм, что выше среднемноголетней нормы на 2,3 %. Большее количество осадков выпало в марте – на 70,6 %, в июле – на 117,0 % (чуть более двойной нормы), в сентябре – на 131,5 % больше среднемноголетних данных. Наибольший дефицит осадков наблюдался в феврале – на 81,1 %, апреле – на 56,1 %, мае – на 24,2 % и августе – на 22,5 % ниже среднемноголетних данных. Среднесуточная температура за 2013 год составила 12,1 °С, что выше на 13,1 % среднемноголетних значений. Среднемесячная температура воздуха ниже среднемноголетней наблюдалась в сентябре на 1,7 °С, выше среднемноголетней – в январе на 3,8 °С, феврале на 5,3 °С, марте на 2,8 °С, апреле на 1,5 °С, мае на 3,1 °С, июне 1,6 °С и августе 1,0 °С. В остальные месяцы температура наблюдалась в пределах среднемноголетних значений (Таблица 2.1). Большое количество осадков в июле отрицательно повлияло на опыление и завязываемость семян, а в сентябре привело к значительному поражению болезнями.

Таблица 2.1 – Погодные условия 2005-2014 гг. в сравнении со среднемноголетними значениями

Армавирская метеостанция, ВНИИМК, 2005-2014 гг.

Месяц	Год										
	Средне-многолетнее	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Количество выпавших осадков, мм											
Январь	37,1	3,0	47,8	43,5	17,4	47,3	52,7	32,2	31,6	22,0	68,0
Февраль	32,2	33,9	60,2	22,3	30,2	42,8	21,2	31,9	13,5	5,6	22,6
Март	40,5	100,3	16,5	56,6	49,9	58,3	89,5	79,4	41,9	59,4	44,4
Апрель	52,3	28,5	54,7	33,8	57,5	14,5	50,5	50,7	62,5	20,4	47,8
Май	66,2	74,0	105,0	45,4	96,9	98,4	52,2	91,8	171,3	48,2	91,3
Июнь	76,1	22,5	67,5	58,1	39,8	154	100,1	172,9	61,6	70,4	64,0
Июль	54,5	31,5	81,0	24,7	85,9	56,3	10,8	29,8	58,1	123,3	26,8
Август	57,3	21,0	31,5	38,9	11,1	51,9	31,7	79,8	134,6	43,1	17,7
Сентябрь	43,0	26,0	143,6	9,5	52,1	63	43,8	30,0	11,0	101,0	54,6
Октябрь	41,7	79,4	39,1	34,5	45,1	15,9	77,2	80,7	3,0	28,4	27,8
Ноябрь	45,7	31,5	85,9	37	59,4	64	44,5	41,5	36,2	33,6	12,2
Декабрь	43,7	23,5	35,4	33,8	25,5	36,4	30,8	9,5	11,4	37,0	12,4
Сумма	590,3	475,1	768,2	438,1	570,8	702,8	605	730,2	644,8	592,4	489,6
Среднемесячная температура воздуха, °С											
Январь	-2,4	2,4	-5,9	3,3	-4,6	-1,6	-0,7	-1,2	-2,5	1,8	-0,9
Февраль	-1,1	-0,2	-1,9	-0,7	-0,4	4,1	1,8	-3,1	-6,0	4,3	1,1
Март	3,2	1,9	6,7	5,0	9,4	5,6	4,7	3,5	1,3	6,5	6,5
Апрель	11,3	12,2	12,2	9,6	13,7	9,1	11,3	9,3	15,7	12,7	11,2
Май	16,7	18	16,9	18,6	15,0	15,1	18,0	16,1	19,7	19,7	18,5
Июнь	20,1	18,5	23,1	21,7	19,6	22,5	23,9	20,4	22,4	21,9	20,9
Июль	22,7	23,5	22,8	24,6	23,3	24,3	26,0	25,3	24,0	23,3	24,5
Август	22,1	23,9	27,9	26,1	24,9	20,2	26,8	22,3	22,9	23,5	25,5
Сентябрь	17,2	19,6	19,7	20,3	18,0	17,6	20,9	17,3	19,4	15,6	18,1
Октябрь	10,8	13,4	13,4	14,6	12,5	14,9	11	10,9	15,5	10,7	9,7
Ноябрь	5,2	5,7	5,8	3,5	7,1	7,1	9,6	-0,4	7,8	7,5	4,0
Декабрь	0,5	2,3	2,3	1,2	0,0	3,3	5,9	3,3	1,0	-1,9	2,9
Среднее	10,5	11,8	11,9	12,3	11,5	11,85	13,3	10,3	11,8	12,1	11,8

Годовое количество выпавших осадков за 2014 год составило 489,6 мм, что ниже среднегодовой нормы на 15,2 %. Больше количество осадков выпало в январе – на 97,7 %, в мае – на 41,6 % больше среднегодовых значений. Наибольший дефицит осадков наблюдался в июле – на 52,6 % и августе – на 67,9 % ниже среднегодовых данных. Среднесуточная температура за 2014 год составила 11,8 °С, что на 0,1 °С выше среднегодовых значений. Среднемесячная температура воздуха ниже среднегодовой наблюдалась в октябре, на 1,1 °С, с января по сентябрь среднемесячная температура наблюдалась выше среднегодовой на 0,6-2,9 °С. В апреле температура наблюдалась в пределах среднегодовых значений.

2.2 Материал и методы исследований

Материал исследований. В работе использованы линии, гибриды и сорта подсолнечника Армавирской опытной станции (г. Армавир) и центральной экспериментальной базы (г. Краснодар) ВНИИМК, а также гибриды иностранных фирм (НК Неома и Римисол).

Линии: ВА6, ВА384, ВА760, ВК276, ВК580, ВК585 и ВК678.

Гибриды: Триумф, Темп и Кубанский 93.

Сорта: Родник, Мастер и Орешек.

Методы исследований. Исследования проводили в 2005-2014 гг. на Армавирской опытной станции (АРОС) и центральной экспериментальной базе (ЦЭБ) ВНИИМК. Ежегодно проводили ручной и (или) сеялочный посев на экспериментальных участках при расстановке растений 70×35 см по одному в гнезде по общепринятой для подсолнечника агротехнологии. Предшествующая культура – озимая пшеница. В случае оценки признака гербицидоустойчивости, на стадии трёх пар настоящих листьев растения обрабатывали имидазолиноновыми гербицидами, как правило, в однократной дозе 1 л/га: Пульсаром (д.в. имазамокс) или Евро-Лайтнинггом (д.в. имазапир

и имазамокс). Оценку степени поражения растений гербицидом проводили по шкале фитотоксичности через 7-10 дней после обработки.

При выращивании растений в осенне-зимний период в камере фитотрона использовали фотопериод 16/8 ч день/ночь, светильники Фотос.4 с лампами ДРИ-2000-6, обеспечивающие освещенность 25 килोलюкс.

Самоопыление и гибридизацию с использованием ручной кастрации подсолнечника проводили принятыми во ВНИИМК методами.

В случае проведения молекулярно-генетического анализа в лаборатории иммунитета и молекулярного маркирования ВНИИМК при непосредственном участии ведущего научного сотрудника С.З. Гучетль, ДНК подсолнечника выделяли из листьев индивидуальных вегетирующих растений.

Для дальнейшего проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 mM трис-HCl, pH8,8; 16,6 mM сульфата аммония; 1,5-3 mM MgCl₂; 0,01% Tween 20; по 0,2 mM дезоксирибонуклеозидфосфатов; по 20 мкМ праймеров; 5X Q solution; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (Сибэнзим, г. Москва). Для амплификации использовали термоциклер S1000™ (BioRad, США).

Условия амплификации: начальная денатурация – 2 мин 96 °С, затем 30 циклов при соблюдении температурно-временного режима: денатурация при 94 °С – 30 сек, отжиг при 60 °С в течение 40 сек, элонгация – 1 мин при 70 °С, финальная элонгация – 2 мин. Для ПЦР анализа использовали SNP-праймеры, которые были разработаны и предоставлены нам для работы фирмой BASF (США).

Электрофорез продуктов амплификации проводили в агарозном геле (2% агарозы, 1x TAE-буфер) с использованием камеры SE-2 для горизонтального электрофореза (Хеликон, Россия). Последующее окрашивание осуществляли бромистым этидием. Документирование

результатов электрофореза обеспечивалось при помощи системы цифровой документации видеоизображения BIO-PRINT (Vilber Lourmat, Франция).

Статистическую обработку данных проводили, используя стандартные биометрические методы [52], в частности, регрессионный и корреляционный анализ, определение наименьшей существенной разности (НСР) и проверку гипотез о схемах расщепления с использованием критерия соответствия χ^2 . Использованы компьютерные программы STATISTICA 6.0 (основные описательные статистики) и Microsoft Excel.

3 СКРИНИНГ ГЕНОТИПОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ИМИДАЗОЛИНОВЫМ ГЕРБИЦИДАМ

3.1 Селекционный генофонд ЦЭБ ВНИИМК

В связи с отсутствием данных о наличии устойчивых к имидазолинонам растений у культурного подсолнечника при изучении ограниченных объемов выборок нами была сформулирована задача оценить частоту встречаемости потенциальных наследственных факторов гербицидоустойчивости в генофонде культурного подсолнечника ВНИИМК при существенно большем объеме выборки.

Исследования проводили на центральной экспериментальной базе ВНИИМК (г. Краснодар) и Армавирской опытной станции ВНИИМК (г. Армавир). Использовали сорта-популяции Родник, Мастер и Орешек, материнские линии ВК276, ВК678, ВА6 и ВА760, отцовские линии ВК580, ВК585 и ВА384. Посев сеялкой проводили на двух 5-ти гектарных участках: первом (ЦЭБ ВНИИМК) в 2012 г. и втором (АрОС) - в 2013 г. На стадии 3-х пар (шести) настоящих листьев растения обрабатывали гербицидами Пульсар (1 л/га, д.в. имазамокс). Оценку поражения растений гербицидом проводили через семь дней после обработки. Явно ложно-устойчивые типичные растения в пределах ряда, т.е. группы растений, на которые не попал гербицид, а также и единичные поздно возшедшие растения, избежавшие контакта с гербицидом, не учитывались как устойчивые.

В опыте 2012 г. на поле №1, обработанном Пульсаром, были обнаружены семь растений без признаков фитотоксичности, тогда как все остальные из около 200000 осматриваемых растений сортов Родник, Мастер и Орешек, а также линий ВК678 и ВК580 обладали явными симптомами повреждения гербицидом. Особи без признаков поражения гербицидом были выкопаны, пересажены и самоопылены в питомнике на селекционном поле.

Семь полученных инбредных семей были оценены по устойчивости к имидазолиноновому гербициду Евро-Лайтнинг в условиях камеры фитотрона в осенне-зимний период 2012-2013 гг. (Таблица 3.1). Шесть семей оказались повреждёнными гербицидом (Рисунок 3.1), следовательно, исходные растения были ложно устойчивыми. Однако одна семья от родоначального растения из ряда линии ВК580 в полевом посеве, показала моногенное расщепление на устойчивые и погибшие (Рисунок 3.2) в отношении 14:4, $\chi^2_{3:1} = 0,07$, $\chi^2_{st} = 3,84$, $p > 0,05$ при доминировании устойчивости. Расщепление в I_1 указало на гетерозиготность родоначального растения. С выращенных особей с максимальной степенью устойчивости, обладающих при этом ветвистым фенотипом, были получены семена I_2 в условиях камеры фитотрона.

Таблица 3.1 – Результаты оценки отобранных в поле семей I_1 по устойчивости к Евро-Лайтнингу (доза 0,25х) в камере фитотрона

ЦЭБ ВНИИМК, Краснодар, 2012 г.

Генотип	Число растений I_1 , шт.	
	устойчивые	погибшие
Мастер	0	2
Родник	0	12
Родник	0	6
Орешек	0	16
ВК 678	0	17
ВК 580	0	11
ВК «580»	14	4



Рисунок 3.1 - Погибшие растения семьи I₁ ВК580 через шесть дней после обработки Евро-Лайтнингом (доза 0,25х)



Рисунок 3.2 - Расщепление по гербицидоустойчивости растений в семье I₁ «ВК580» через шесть дней после обработки Евро-Лайтнингом (доза 0,25х)

В полевых условиях 2013 г. все растения одной из отобранных семей I₂ «BK580» оказались одновременно ветвистыми и устойчивыми к имидазолиноновому гербициду Евро-Лайтнинг, т.е. были гомозиготны по генам этих признаков. Однако по комплексу морфологических признаков растения этой семьи однозначно отличались от ожидаемого фенотипа линии BK580. Поскольку на скрининговом поле №1 в 2012 г. была посеяна только одна ветвистая линия BK580, то очевидно, что родоначальное гербицидоустойчивое гетерозиготное растение, обнаруженное в ряду растений BK580, было или падалицей, или ауткроссом в предыдущих поколениях (т.е. условно «BK580»).

Более того, молекулярно-генетическая идентификация с помощью молекулярно-генетических SNP-маркеров, показала аллельность обнаруженной мутации гену *Imr*, уже используемому в селекции и сельскохозяйственном производстве. Известно, что этот ген передан культурному подсолнечнику от дикорастущего сородича.

В частности, был проведен анализ образцов подсолнечника гербицидоустойчивой семьи «BK580», по маркерам, выявляющих точечные мутации в разных позициях гена устойчивости к имидазолинонам *AHASL1*. Дорожки 1-3 на Рисунке 3.3 являются контрольными и показывают образцы подсолнечника, несущие мутацию A205 (At)V. Фракция длиной 970 пн представляет собой контрольный бенд, который амплифицируется несмотря на наличие или отсутствие мутации. Фрагмент ДНК 666 пн является диагностическим для мутантного генотипа. И, наконец, фрагмент 304 пн амплифицируется у образцов подсолнечника дикого типа, т.е. не несущего мутацию A205 (At)V. Дорожки 4-8 на Рисунке 3.3 – ДНК образцов подсолнечника, которые были толерантны к имидазолиноновым гербицидам в поле, но природа устойчивости была неизвестна. Поскольку у этих образцов амплифицировался диагностический бенд 666 пн, но не амплифицировался фрагмент 304 пн, данные образцы подсолнечника являются гомозиготными мутантами по гену *ImiSun* (или *Imr*).

Дорожки 1-5 на Рисунке 3.4 представляют образцы подсолнечника, несущие мутацию A122 (At)T гена *AHASL1*. Фрагмент ДНК 576 пн является диагностическим для этого мутантного генотипа.

Фрагмент 258 пн амплифицируется у образцов подсолнечника дикого типа. Дорожки 6-10 на Рисунке 3.4 – ДНК образцов подсолнечника, которые были толерантны к имидазолиновым гербицидам, но природа устойчивости была неизвестна. Поскольку у этих образцов не амплифицировался диагностический бенд 576 пн, но амплифицировался фрагмент 258 пн, установлено, что данные формы подсолнечника не несут мутации по сайту A122 (At)T гена *AHASL1*, т.е. гену *CLHA-Plus*.

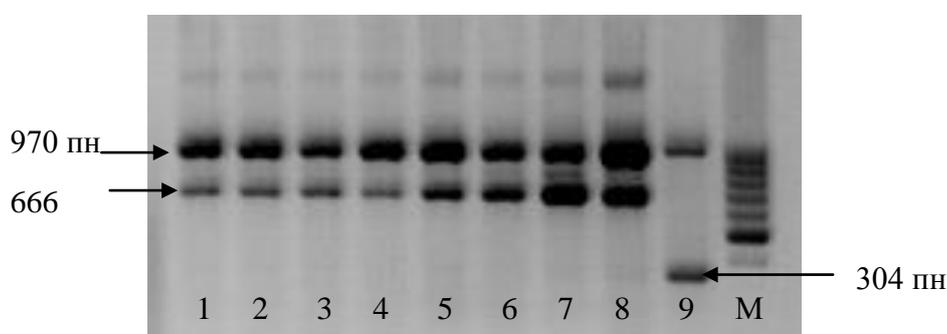


Рисунок 3.3 - Электрофоретические спектры фрагментов ДНК подсолнечника, амплифицированные с аллель-специфичными праймерами по гену *ImiSun*.

М – маркер молекулярной массы 100 kb. Дорожки: 1-3 - ДНК образцов подсолнечника, несущих мутацию A205 (At)V; 4-8 - ДНК образцов, толерантных к имидазолиновым гербицидам; 9 - ДНК подсолнечника дикого типа, не устойчивого к имидазолинону

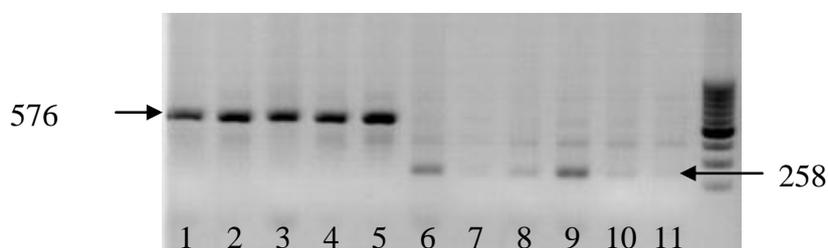


Рисунок 3.4 - Электрофоретические спектры фрагментов ДНК подсолнечника, амплифицированные с аллель-специфичными праймерами по гену *CLHA-Plus*.

М – маркер молекулярной массы 100 kb. Дорожки: 1-5 ДНК образцов подсолнечника, несущих мутацию A122 (At)T гена *AHASL1*; 6-10 - ДНК образцов, которые были толерантны к имидазолиновым гербицидам; 11 - контрольный образец ДНК дикого типа, не устойчивый к имидазолинону

3.2 Селекционный генофонд Армавирской опытной станции ВНИИМК

На Армавирской опытной станции ВНИИМК на 5-ти гектарном поле подсолнечника №2 после обработки Пульсаром (1 л/га) при массовой гибели растений (Рисунок 3.5) были отобраны, выращены и самоопылены два растения, по одному из рядов линий ВА6 и ВА384 в посеве, без признаков повреждения гербицидом. В камере фитотрона в осенне-зимний период 2013-2014 гг. семья I₁ «ВА6» показала моногенное наследование и расщепление по гербицидоустойчивости, тогда как все растения семьи I₁ ВА384 полностью погибли, показав ложную устойчивость родоначального растения. Выжившие растения семьи I₁ «ВА6» по комплексу морфологических признаков, включая окраску и форму как листьев, так и околоплодника семян, явно не соответствовали фенотипу линии ВА6, что указывает на родоначальное растение как падалицу или ауткросс в предыдущих поколениях.



Рисунок 3.5 - Погибшие растения подсолнечника через 10 дней после обработки Пульсаром (доза 1х). В правом нижнем углу не обработанный контроль. Армавирская опытная станция ВНИИМК, 2013 г.

Таким образом, на двух экспериментальных полях общей площадью 10 га при осмотре около 480000 растений трёх сортов и семи линий не было обнаружено ни одного типичного растения посеянных генотипов подсолнечника с признаком устойчивости к имидазолиномам (Таблица 3.2).

Следовательно, потенциальная частота встречаемости доминантного гена имидазолиноустойчивости при этом оценивается менее чем 5×10^{-6} (1:200000) для генофонда изученных сортов и линий ЦЭБ ВНИИМК и менее 4×10^{-6} для линий Армавирской опытной станции (1:280000).

Таблица 3.2 – Результаты оценки частоты встречаемости доминантных генов гербицидоустойчивости в селекционном материале подсолнечника ВНИИМК

ВНИИМК, 2012-2013 гг.

Генотип	Количество обработанных растений, шт.	Количество устойчивых растений, шт.	Частота встречаемости генов гербицидоустойчивости
<i>Поле №1, 200000 растений, Пульсар, 2012 г.</i>			
Родник	20000	0	< 1/20000
Мастер	20000	0	< 1/20000
Орешек	20000	0	< 1/20000
ВК276	30000	0	< 1/30000
ВК678	30000	0	< 1/30000
ВК580	40000	0	< 1/40000
ВК585	40000	0	< 1/40000
<i>Поле №2, 280000 растений, Пульсар, 2013 г.</i>			
ВА6	100000	0	< 1/100000
ВА760	70000	0	< 1/70000
ВА384	110000	0	< 1/110000

В ситуации отсутствия генов гербицидоустойчивости в собственном селекционном материале целесообразно использовать доступный донор этого признака для введения соответствующих генов в элитные линии.

4 СОЗДАНИЕ ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ИМИДАЗОЛИНОВЫМ ГЕРБИЦИДАМ

В случае отсутствия в селекционных линиях и сортах признака устойчивости к имидазолинонам, можно использовать два основных подхода: создание новых по комплексу хозяйственно ценных признаков линий после гибридизации с донором гербицидоустойчивости и селективное скрещивание аналогов лучших селекционных линий по целевому признаку путем серии беккроссов. Поскольку второй подход обладает большей вероятностью получения прогнозируемого положительного результата, именно он был взят нами в качестве селекционной стратегии.

Система возвратных скрещиваний при создании аналогов предполагает на каждом этапе беккроссов отбор гетерозиготных по целевому гену растений из расщепляющегося потомства. Эти выживающие после обработки гербицидом гетерозиготы случайным образом распределены в посевах среди погибающих гомозигот. В результате формируется посев с нерегулярной расстановкой отдельных растений, которые продуцируют семена при разной площади питания. Очевидно, что в таких условиях существует необходимость разработки эффективных способов отбора ценотически продуктивных растений в потомстве. Подобная ситуация складывается также при сильных конкурентных отношениях растений в любом посевах подсолнечника – для линий, гибридов или сортов.

4.1 Совершенствование способов определения ценотически продуктивных генотипов при индивидуальном отборе

Получению имидазолиноноустойчивого гибрида подсолнечника предшествовала работа по практическому изучению некоторых аспектов теории отбора и созданию исходных родительских линий и гибрида, в которые затем предстояло передать путем возвратных скрещиваний полудоминантный ген устойчивости к имидазолинонам *Imr*.

Создание такого базового урожайного гибрида, являющегося основой для получения его аналога по целевому гену гербицидоустойчивости, также требовало определения способов эффективной идентификации генотипа по фенотипу. Известно, что при отборах на урожайность одной из трудных задач является повышение надежности выявления среди особей популяции лучших генотипов по их фенотипам.

Для модельного (т.е. пригодного для любых генотипов) изучения влияния конкуренции на признаки растений подсолнечника в агрофитоценозе были экспериментально созданы стартовые различия роста соседних растений за счет разного срока появления их всходов. Эксперименты проводили в 3-х повторностях на 6-ти рядных делянках с расположением гнезд 70×70 см и оставлением после прорывки по одному растению. В первый срок сеяли 50% гнезд в шахматном порядке, в оставшиеся между ними гнезда семена тех же генотипов сеяли через три, шесть и девять дней в зависимости от варианта опыта. На контрольных делянках все гнезда сеяли одновременно в первый срок. Урожайность семян и другие характеристики растений на каждой опытной делянке учитывались отдельно для групп растений основного и второго срока посева. С целью достижения минимального наследственного варьирования брали семена F₁ простых межлинейных гибридов Триумф и Кубанский 93 (Краснодар, ЦЭБ ВНИИМК, 2004 г.) и Темп (Армавирская опытная станция, 2005-2006 гг.). Все опыты проводились при консультации ведущего научного сотрудника отдела подсолнечника ВНИИМК, кандидата биологических наук Дьякова Александра Борисовича.

Начальные отличия по срокам появления всходов дали сопоставимый эффект на характеристики растений гибридов Триумф, Кубанский 93 и Темп, в связи с чем далее показаны данные только эксперимента с гибридом Темп. Против значения $x = 0$ абсциссы этих графиков отложены данные контрольного варианта, против значений $x > 0$ - оценки признаков позже

взошедших растений опытных вариантов, а против $x < 0$ - показатели конкурирующих с ними растений первого срока посева.

Полученные результаты (Таблица 4.1) говорят о существенных изменениях изучаемых признаков растений по мере увеличения их различий по конкурентоспособности. При этом с возрастающим ограничением площади питания отдельных растений происходит уменьшение значений признаков массы стебля с цветоложем корзинки, урожая ядер семян, сбора масла и белка с растения, а также увеличение масличности ядер семян и их уборочного индекса.

Таблица 4.1 – Характеристика признаков растений по конкурентоспособности в посевах подсолнечника гибрида Темп

АРОС ВНИИМК, 2005-2006 гг.

Различия в появлении всходов, сутки	Масса стебля с цветоложем корзинки, г/раст.	Масличность ядер семян, %	Урожай ядер семян, г/раст.	Уборочный индекс ядер семян	Сбор масла, г/раст.	Сбор белка, г/раст.
2005 г.						
-8	220,7	58,9	122,9	0,321	68,0	27,1
-6	215,2	59,3	119,2	0,321	66,3	25,8
-3	193,0	59,2	116,5	0,338	64,8	25,3
0	191,2	60,6	110,1	0,329	62,6	22,1
3	174,2	61,1	107,8	0,344	61,9	20,9
6	156,1	63,5	97,0	0,345	57,9	15,9
8	150,7	63,4	97,0	0,350	57,8	16,1
Среднее	185,9	60,9	110,1	0,336	62,8	21,9
2006 г.						
-11	276,7	55,3	91,8	0,228	47,7	24,3
-8	232,0	57,8	94,7	0,261	51,4	22,1
-6	256,4	58,3	92,7	0,241	50,8	21,0
0	263,5	59,6	88,5	0,228	49,6	18,7
6	227,6	61,6	90,9	0,260	52,6	17,0
8	205,8	60,6	87,9	0,271	50,1	17,6
11	175,4	62,6	84,1	0,292	49,5	14,7
Среднее	233,9	59,4	90,1	0,254	50,2	19,3

Дальнейшая статистическая обработка данных показала, что судя по прямолинейности регрессии не только в правых, но и в левых частях отдельных графиков наблюдается аддитивная реакция соседних растений на изменения освоенной ими площади питания в посевах (Рисунок 4.1). А именно, в какой мере снижается продуктивность слабых конкурентов, в такой же степени возрастает продуктивность растущих рядом с ними более сильных биотипов. Различия растений по конкурентоспособности не только искажают оценки селекционных признаков генотипа, но также пропорционально изменяют значения других признаков, например массы стебля с цветоложем корзинки (Рисунок 4.1, Б), что позволяет измерять степень искажения конкуренцией оценок селекционных параметров на основе принципа фоновых признаков. При этом следует учитывать обнаруженную закономерность: улучшение условий питания растений за счет усиления их конкурентоспособности в большей степени стимулирует вегетативный рост, чем увеличение урожая семян. Об этом свидетельствует сопоставление значений коэффициентов регрессий значений этих признаков на число дней разницы в появлении всходов (Рисунок 4.1, А и Б). Этот коэффициент для массы стебля с цветоложем в 2,7 раза больше, чем для урожая семян, хотя средние величины этих признаков различаются только в 1,7 раза. Повышение конкурентоспособности также сопровождается в 2,6 раза более значительными приростами урожая семян, чем сборов масла. Средние величины различаются лишь в 1,8 раза (Рисунок 4.1, А и Б). Это означает, что по мере повышения конкурентоспособности уменьшается эффективность утилизации ресурсов среды на биосинтез жира, что приводит к закономерному снижению масличности ядер семян по мере усиления конкурентоспособности особей подсолнечника (Рисунок 4.1, Г).

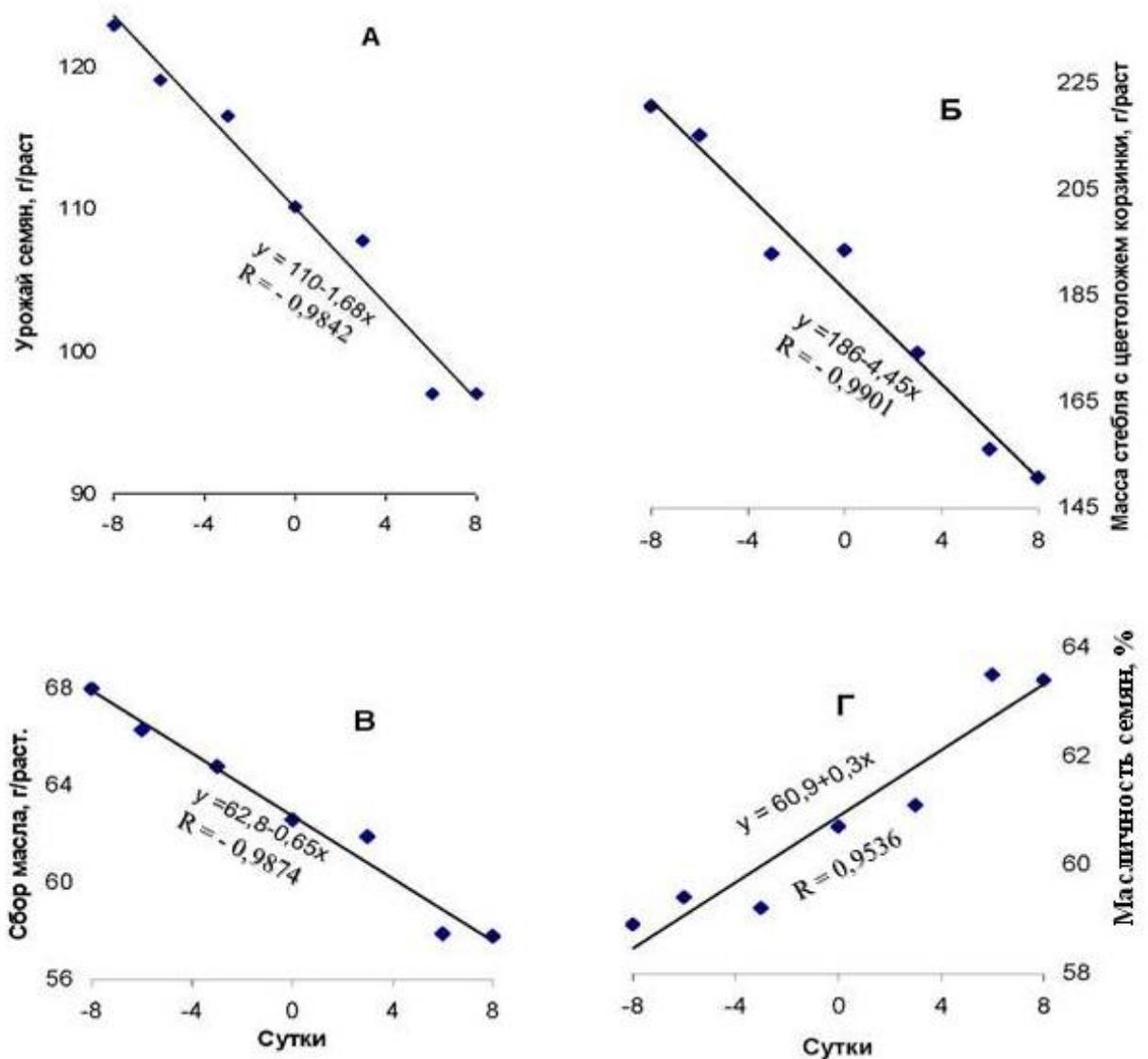


Рисунок 4.1 — Влияние различий в сроках появления всходов соседних растений в посевах гибрида подсолнечника Темп на оценки урожая семян: А (ядра семян, г/раст.), Б (масса стебля с цветоложем корзинок, г/раст.), В (сбор масла, г/раст.) и Г (масличность ядер семян, %)

Вследствие большого числа генов, детерминирующих урожайность и масличность семян, в каждой генерации перекрестноопыляющейся популяции образуется множество генотипов, в том числе особи с наиболее удачными комбинациями аллелей. Поэтому эффективность селекции, как сортов-популяций, так и родительских линий гибридов в решающей степени зависит от надежности идентификации генотипов с удачными комбинациями аллелей по фенотипам отбираемых растений.

Академик В.С. Пустовойт (1975) оценивал селекционный потенциал исходных особей подсолнечника по масличности ядер семян, т.к. этот признак является показателем эффективности использования, как отдельным растением, так и полевым посевом доступного азота и других ресурсов среды на формирование урожая семян. При этом признаки отбираемых растений могут модификационно искажаться эффектом конкуренции.

Так, судя по данным графика (Рисунок 4.1, Г), масличность может значительно повышаться вследствие недостаточной обеспеченности ресурсами слабоконкурентоспособных растений. Однако связанные с этим ошибки отборов растений можно исключить на основе учета того, что повышение масличности по мере снижения конкурентоспособности связано со снижением урожая семян (Рисунок 4.1, А и Г). Подобные ошибки элиминируются при отборах растений по методу В.С. Пустовойта, поскольку он рекомендовал выбирать продуктивные корзинки с количеством семян более 1000. Очевидно, что практически следует осуществлять отборы растений с высокой масличностью ядер семян среди высокопродуктивных растений. Отобранные лучшие генотипы характеризуются сочетанием высокого урожая ядер семян с их повышенной масличностью.

Более того, по величине биомассы каждого растения можно судить об использованной им площади питания в агроценозе с целью устранения искажений оценок урожайности, обусловленных неодинаковой конкурентоспособностью соседних растений в полевым посеве. Очевидно, что целесообразно использовать для коррекции оценок потенциала урожайности особей популяции массу их вегетативных органов.

Регрессионный анализ данных подтверждает гипотезу о возможности использования величин массы вегетативных органов для измерения селекционно бесполезных сдвигов оценок урожайности отдельных растений, обусловленных их различиями по конкурентоспособности.

На Рисунке 4.2 показана высокая положительная зависимость вызванных конкуренцией изменений величин урожая семян растений

подсолнечника от значений сухой массы их стеблей с цветоложем корзинок. Коэффициенты корреляции такой зависимости в этих опытах были статистически достоверны и составили для растений гибридов Триумф $r = 0,89$, Темп $r = 0,97$ и Кубанский 93 $r = 0,91$. Линии регрессии урожаев семян на величины воздушно сухой массы стебля с цветоложем корзинки расположились на графике на разных уровнях в соответствии с потенциалом урожайности изученных генотипов. Это подтверждает возможность использования массы вегетативных органов в качестве фонового признака для идентификации желательных генотипов при отборах особей из расщепляющихся популяций подсолнечника.

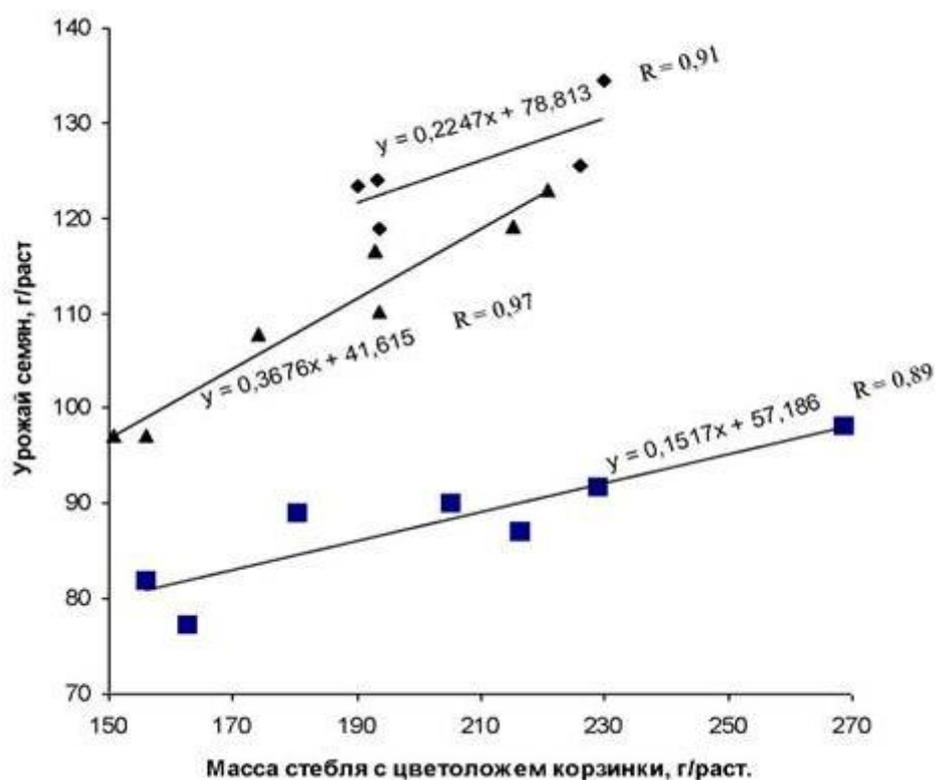


Рисунок 4.2 - Регрессия урожаев семян (ядер семян, г/раст.) на воздушно сухую массу стеблей с цветоложем корзинок (г/раст.) при обусловленности ковариации признаков средовыми различиями по конкурентоспособности растений гибридов подсолнечника Триумф (■), Темп (▲) и Кубанский 93 (◆)

Кроме того, было важно определить сопряженность варьирования двух фоновых признаков растений при выявлении в популяциях подсолнечника генотипов, обладающих высокой эффективностью использования ресурсов внешней среды. Вычисленные по данным проведенных опытов средовые конкурентные корреляции между величинами масличности ядер семян и массы стебля с цветоложем корзинки оказались отрицательными и очень высокими. Коэффициенты статистически достоверных корреляций составили для гибрида Триумф $r = -0,97$, Темп $r = -0,94$, и Кубанский 93 $r = -0,87$. Поскольку эти два признака формируют разные процессы, средовая корреляция между ними может быть обусловлена возрастающей конкурентоспособностью (Рисунок 4.3).

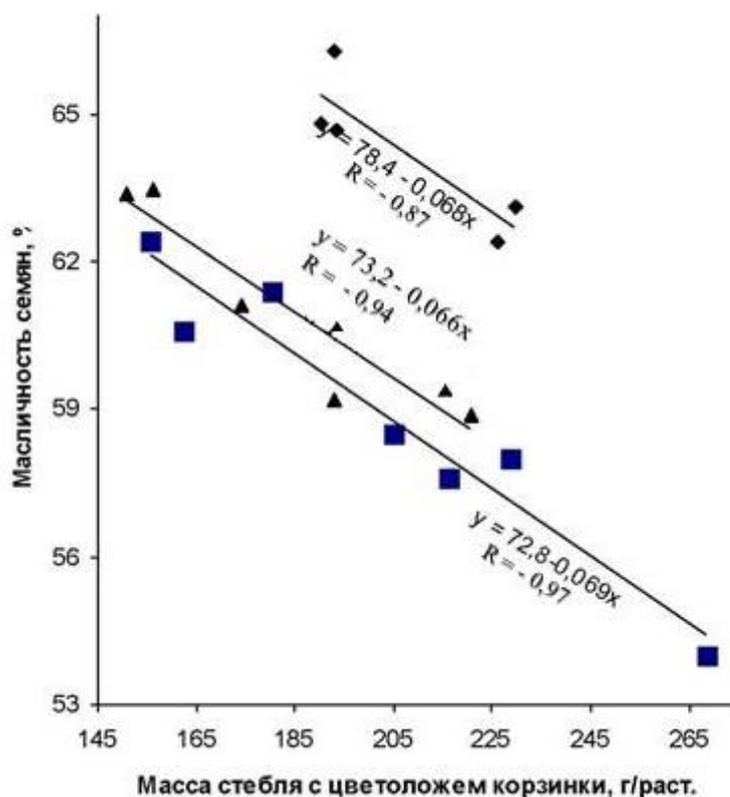


Рисунок 4.3 - Регрессия масличности семян (ядер семян) (%) на воздушно сухую массу стеблей с цветоложем корзинки (г/раст.) при обусловленности ковариации признаков средовыми различиями по конкурентоспособности растений гибридов Триумф (■), Темп (▲) и Кубанский 93 (◆)

Увеличение доступности ресурсов внешней среды приводит как к усилению вегетативного роста растений, так и к последовательному уменьшению эффективности использования ресурсов на формирование урожая семян, о чем свидетельствует закономерное снижение их масличности.

Таким образом, различия растений по конкурентоспособности в сильной степени искажают значения сборов масла, урожаев и масличности ядер семян подсолнечника. Связанные с конкуренцией сдвиги оценок этих признаков селекционно бесполезны, т.к. урожайность с единицы площади посева можно увеличить отбором не на большее поглощение, а на более эффективное использование ограниченных ресурсов среды. При этом нежелательно удлинение периода вегетации создаваемых сортов и гибридов.

Признак масличности ядер семян, характеризующий степень использования растением доступных ему ресурсов среды, при конкурентной изменчивости снижается по мере роста урожая семян. Выявленная разнонаправленность ковариаций двух пар этих признаков делает понятным причины уникальной результативности использования академиком В.С. Пустовойтом (1975) признака масличности ядер семян, в сочетании с другими показателями, для идентификации желательных генотипов как при отборах родоначальных растений в популяциях, так и при оценках семей их потомств, испытанных на однорядных делянках. Надежность отборов растений при рекуррентной селекции популяций подсолнечника можно также повысить за счет использования для уменьшения конкурентной изменчивости дополнительного фонового признака - воздушно сухой массы стебля с цветоложем корзинки. Значения этого признака также хорошо отражают величины конкурентных изменений значений урожая семян и сбора масла. Оценки массы стебля с цветоложем связаны очень высокой отрицательной корреляцией со значениями масличности семян.

Известно, что при отборе потенциально урожайных генотипов из расщепляющихся популяций по генетическим соображениям необходимо

оценивать значительно большее число особей, чем селекционер может испытать по потомству. Например, академик В.С. Пустовойт (1975) ежегодно отбирал и оценивал 10000-15000 растений, а испытывал потомства только 1000-1200 особей. На первом этапе отбора о генотипах растений он судил по их фенотипам и на этом основании выбраковывал около 90% от числа отобранных особей. Предполагается, что надежность суждений о генотипах по их фенотипам настолько низка, что по величине урожая одного растения или небольшого числа его потомков невозможно предсказать их потенциальную урожайность с единицы площади посева. Однако успехи В.С. Пустовойта (1975) свидетельствуют о принципиальной возможности такой идентификации желательных генотипов при условии углубленных познаний причин изменчивости признаков, включая фоновые.

В 2007 г. из 104 растений гетерозиготной синтетической популяции подсолнечника, созданной нами на Армавирской опытной станции, были отобраны по 15 растений с лучшим и худшим сочетанием селекционно ценных признаков, включая массу стебля с цветоложем корзинки и масличность ядер семян как фоновые (Таблица 4.2).

Результаты испытания семей потомков лучших и худших растений, отобранных в 2007 г. из синтетической популяции подсолнечника по урожаю семян (г/раст.) с коррекцией по двум фоновым признакам позволили нам установить, что разница между средними величинами двух групп потомков была достоверна для урожайности семян, урожайности ядер семян и сбора масла в 2008 г. (Таблица 4.3).

Таким образом, эффективность идентификации генотипа по фенотипу с использованием фоновых признаков масличности ядер семян и массы вегетативных органов была доказана для трех селекционно ценных признаков урожайности.

Таблица 4.2 – Характеристика растений, отобранных из синтетической популяции подсолнечника

АРОС ВНИИМК, 2007 г.

Номер растения	Число дней всходы – цветение, сутки	Масса стебля с цветоложем корзинки, г/раст.	Отклонение урожая от линии регрессии по массе стебля с цветоложем корзинки, г/раст.	Урожай ядер семян, г/раст.	Масличность ядер семян, %	Сбор масла, г/раст.
2*	55	104	10,34	67,2	68,6	43,3
3*	54	86	10,76	58,8	69,7	38,5
8	57	149	-21,83	55,8	64,6	33,9
10	54	134	-17,86	52,8	61,9	30,7
16	57	154	-12,43	67,8	55,8	35,6
18	55	155	-24,34	56,3	64,5	34,2
21	57	78	-1,11	43,4	59,9	24,4
23	54	93	-11,88	39,7	63,4	23,7
30*	56	129	16,97	85,6	65,7	52,9
32	56	80	-5,88	39,6	64,0	23,8
36*	55	122	18,75	84,0	64,0	50,5
39*	62	86	16,31	64,6	67,8	41,2
43	54	141	-17,07	56,9	59,4	31,8
44*	58	106	34,63	92,2	66,2	57,4
45*	57	87	17,15	65,8	67,9	42,0
55*	58	127	11,34	78,6	65,4	48,3
62*	57	111	10,29	70,2	66,7	44,0
63	56	78	-4,46	40,1	65,3	24,6
67	56	100	-8,76	46,2	66,2	28,8
70	58	65	-3,83	34,6	67,8	22,0
75*	59	119	3,92	67,5	71,6	45,4
79	57	103	-5,37	50,8	57,8	27,6
80	56	154	-24,71	55,2	55,4	28,8
87*	58	147	13,13	89,9	65,3	55,2
89*	58	136	6,52	78,0	69,3	50,8
91*	58	146	6,50	83,1	70,8	55,3
92	58	116	-19,78	42,6	68,3	27,3
97*	57	147	14,17	90,9	64,7	55,3
100	57	94	-19,07	33,0	59,2	18,3
103*	57	112	20,34	80,9	66,2	50,3

* – лучшие растения; без обозначения – худшие

Таблица 4.3 – Результаты испытания семей потомков лучших и худших растений, отобранных из синтетической популяции подсолнечника

АРОС ВНИИМК, 2008 г.

Потомства	Число семей	Урожайность, т/га		Лузжистость семян, %	Масличность ядер семян, %	Сбор масла, т/га
		семян	семян			
Лучшие	15	2,99	2,69	24,1	65,8	1,40
Худшие	15	2,78	2,10	24,4	65,3	1,29
t факт.		2,69*	3,01*	0,61	1,23	2,99*

* p < 0,05, отличия достоверны

Следующий этап нашей работы был посвящен изучению возможности оценки масличности ядер семян регрессионным (т.е. расчетным) методом по фактическим величинам их масличности и лужистости. Очевидно, что главной причиной такой постановки вопроса является инструментальная сложность прямого определения масличности ядер семян. Из питомника отбора синтетической популяции подсолнечника, выращиваемой нами на Армавирской опытной станции в 2005 и 2006 гг., выделили 100 отдельных растений с широким диапазоном значений лужистости семян и масличности их ядер, а также определяли масличность семян в пробах из этих же образцов.

На графике (Рисунок 4.4) представлена зависимость масличности ядер семян от масличности семян определенных фактически методом ЯМР. Отклонения точек от линии регрессии свидетельствует о значительном искажении оценок по масличности семян, коэффициенты детерминации 0,795 и 0,646 в 2005 и 2006 годах соответственно.

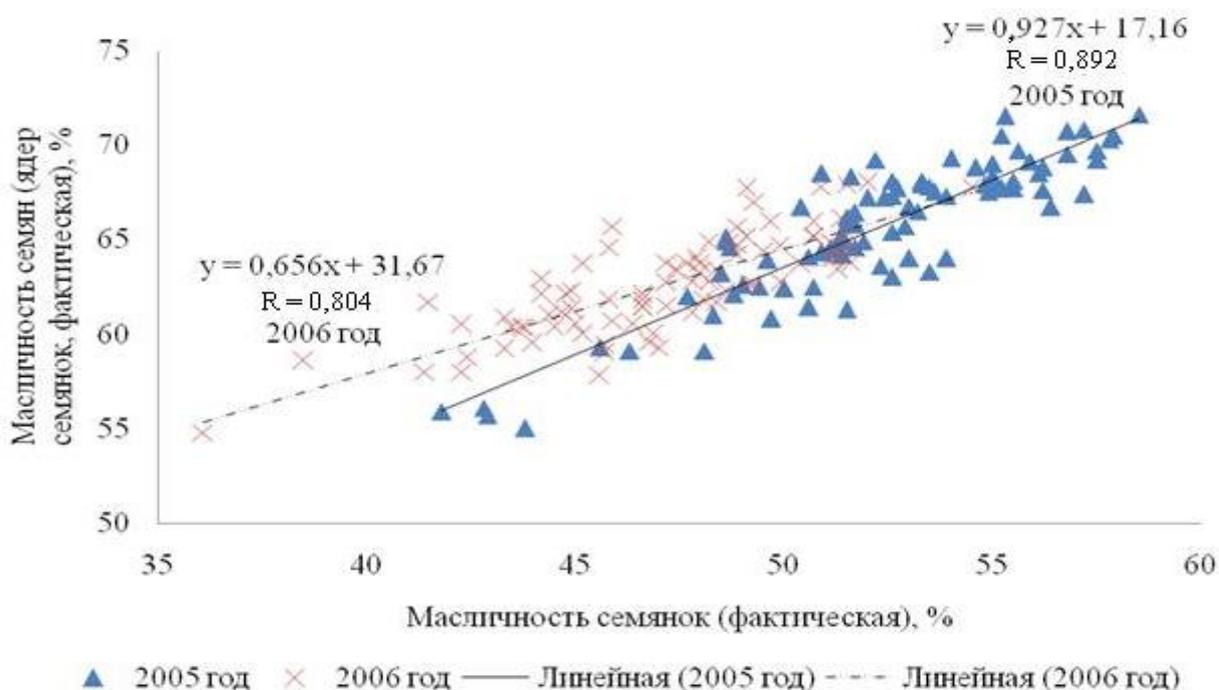


Рисунок 4.4 – Зависимость масличности ядер семян (%) подсолнечника от масличности семян (%), АрОС, 2005-2006 гг.

На Рисунке 4.5 показана зависимость прямого определения масличности ядер семян и рассчитанной по масличности семян с учетом лужистости. Отклонения масличности ядер семян от фактической линии регрессии составили от -4,9 до 4,6 % в 2005 г. и от -3,3 до 2,8 в 2006 г. При этом за пределы 1% масличности выходят 46,4 и 40,0 % определений, а за пределы 2% - 16,7 и 11,8 % в 2005 и 2006 гг., соответственно.

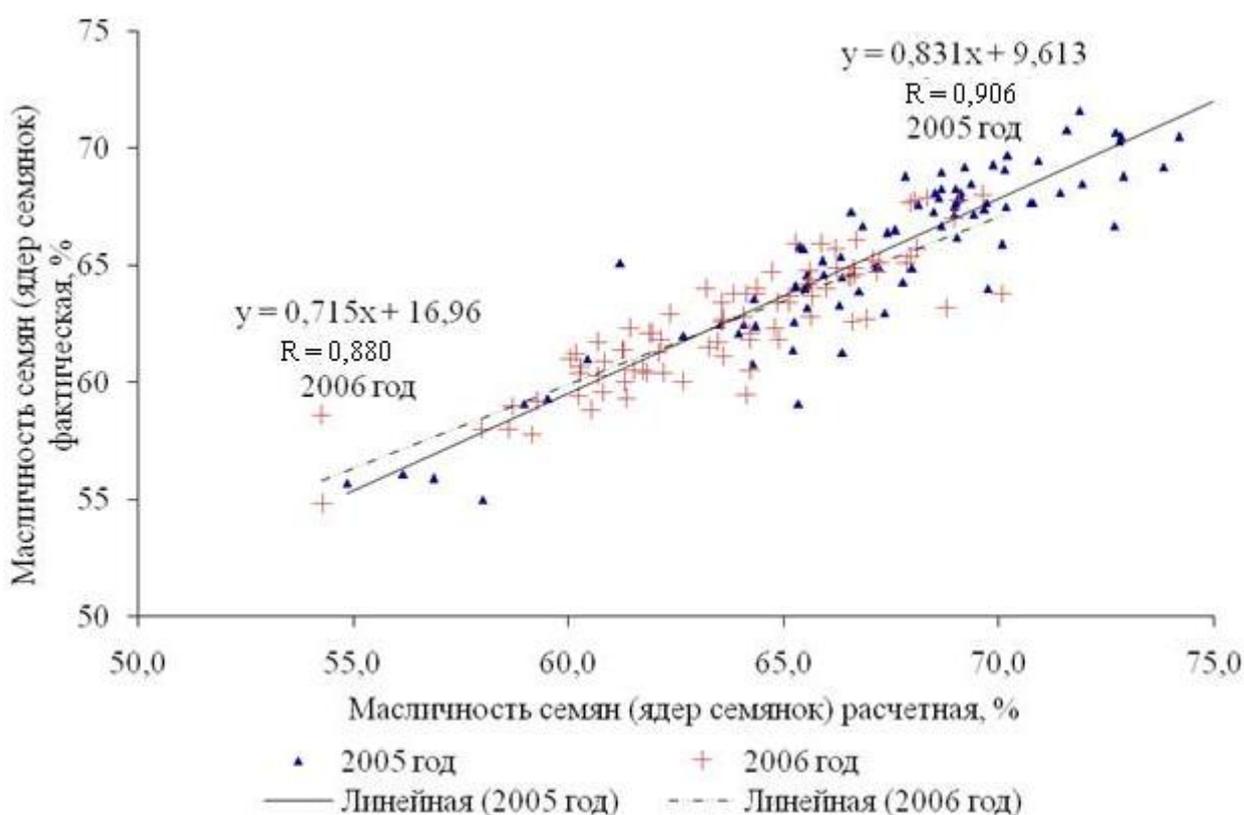


Рисунок 4.5 – Регрессия фактической масличности ядер семян (%) подсолнечника на ее оценки, вычисленные по масличности (%) и лужистости семян, АрОС, 2005-2006 гг.

Следовательно, вследствие недостаточной надежности прогнозов содержания масла в ядрах семян по масличности семян, последняя не может служить достоверным показателем для идентификации генотипов, отбираемых из популяций отдельных растений подсолнечника при его селекции на высокие сборы масла с гектара.

Таким образом, полученные результаты подтверждают возможность использования масличности ядер семян и массы вегетативных органов (стебель с цветоложем корзинки) как фоновых признаков при отборе ценотически продуктивных отдельных растений в условиях различной площади питания. Подобные условия формируются, в частности, при отборе желательных генотипов из выживших после обработки гербицидом растений в расщепляющихся по признаку имидазолиноустойчивости популяциях, например беккроссных потомствах.

4.2 Создание имидазолиноустойчивых родительских линий

В качестве базового гибрида для создания имидазолиноустойчивого аналога был выбран внесенный в 2008 г. в Госреестр допущенных к использованию урожайный гибрид подсолнечника Беркут, полученный на Армавирской опытной станции ВНИИМК (Приложение 11). Генетическая формула гибрида: ВА93 А × ВА325 (Приложение 10).

Следовательно, рекуррентными родителями в программе беккроссов были материнская линия закрепитель стерильности ВА93 и отцовская линия восстановитель фертильности ВА325. Донорами гена гербицидоустойчивости *Imr*, происходящего от дикорастущего подсолнечника, при этом являлись линии лаборатории генетики ВНИИМК *imi-B* (F_4 НА425 × ВК876) и *imi-R* (F_4 РНА426 × ВК580), соответственно.

Работа по введению гена гербицидоустойчивости *Imr* путем беккроссов в родительские линии ВА93 и ВА325 осуществлялась на ЦЭБ ВНИИМК с 2006 по 2010 гг. при консультации старшего научного сотрудника лаборатории генетики, кандидата биологических наук Пихтяревой (Перстеновой) Анастасии Александровны. Работа проводилась как в поле, так и в камерах фитотронно-тепличного комплекса, что позволяло получать два последовательных поколения в год.

На каждом этапе беккроссов растения расщепляющихся семей в соотношении 1 *Imr imr* : 1 *imr imr* обрабатывали с помощью мануального опрыскивателя имидазолиноновыми гербицидами (Пивот или Пульсар) в полевых условиях в однократной дозе 1х (3 мл/л) и в камерах фитотрона - 0,25х (0,75 мл/л). Гетерозиготные растения с геном устойчивости, выжившие с признаками повреждения, подвергались самоопылению и скрещиванию с рекуррентным родителем ВА93 (Рисунок 4.6) или ВА325 (Рисунок 4.7). На завершающих этапах беккроссов с материнской линией ВА93 начинался перевод на ЦМС.

Получение имидазолиноустойчивой линии подсолнечника ВК1-ими было начато со скрещивания с использованием ручной кастрации в 2006 г. селекционной линии ВА93, обладающей высокой комбинационной способностью, с инбредной линией *imi-B* (F_4 НА425 × ВК876), являющейся донором доминантного гена *Imr*. Растения F_1 были самоопылены и повторно скрещены с ВА93 в 2007 г. Семьи BC_1 после обработки имидазолином показали расщепление на выжившие гетерозиготы *Imr imr* и погибшие гомозиготы *imr imr* в соотношении 1:1. Во время цветения гетерозиготные растения самоопыляли для получения семян I_1BC_1 (резерв) и одновременно скрещивали в качестве отцовской формы с рекуррентным родителем ВА93 для получения семян BC_2 . Эта процедура продолжалась до BC_5 с использованием лучших 5-10 выживающих беккроссных растений на каждом этапе. В 2010 г. растения I_1BC_5 были скрещены с ЦМС-линией ВА93А для получения стерильного аналога. В этом же году в I_2BC_5 и в BC_2 на ЦМС форму были отобраны гомозиготные семьи *Imr Imr* (Рисунок 4.6).

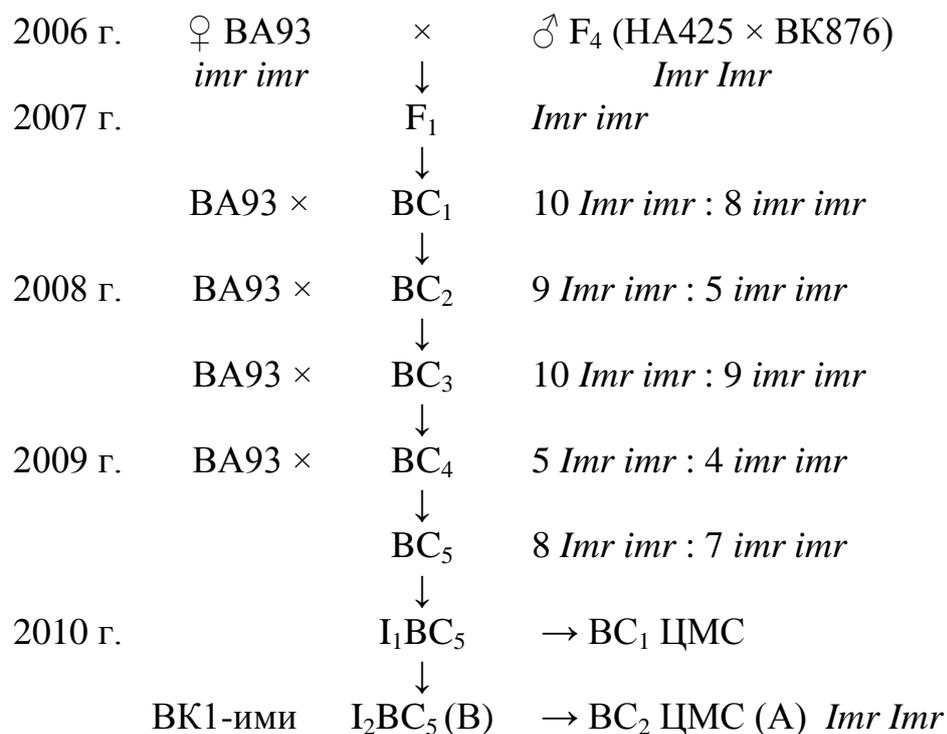


Рисунок 4.6 – Схема получения материнской линии ВК1-ими, имидазолиноустойчивого аналога ВА93 в В и А формах

Таким образом, линия ВК1-ими представлена фертильным (В) и стерильным (А) на основе цитоплазмы РЕТ1 аналогами. Вегетационный период линии ВК1-ими от всходов до цветения равен 54 и до физиологической спелости – 94 дня, высота растений около 105 см, масличность семян составляет 40 %, лужистость – 23 %, масса 1000 штук – 55 г. Морфологические особенности линии ВК1-ими представлены в виде описания 42-х признаков (Таблица 4.4), а также в виде фотографий в Приложении 1, 2 и 3.

Главной особенностью материнской линии ВК1-ими является её наследственная устойчивость к гербицидам имидазолинонового ряда за счёт гомозиготного состояния гена *Imr*, что позволяет использовать эту линию в селекции подсолнечника для получения гибридов, выращиваемых по технологии Clearfield®.

Таблица 4.4 – Характеристика линии ВК1-ими по форме Госкомиссии RTG
№ 0081_2 ПОДСОЛНЕЧНИК

ВНИИМК, 2010-2011 гг.

	Признак	Проявление
1	Гипокотиль: антоциановая окраска	отсутствует
2	Гипокотиль: интенсивность антоциановой окраски	отсутствует
3	Лист: размер	крупный
4	Лист: зеленая окраска	светлая
5	Лист: пузырчатость	слабая
6	Лист: зубчатость	крупная
7	Лист: форма поперечного сечения	плоский
8	Лист: форма верхушки	широкотреугольная
9	Лист: размер ушек	большие
10	Лист: боковые крыльевидные сегменты	отсутствуют
11	Лист: угол между нижними боковыми жилками	острый
12	Лист: высота кончика пластинки относительно прикрепления черешка (на 2/3 высоты растения)	на одном уровне
13	Стебель: опушение в верхней части (последние 5 см)	сильное
14	Время цветения	среднее
15	Язычковые цветки: плотность	средняя
16	Язычковый цветок: форма	узкойцевидная
17	Язычковый цветок: расположение в пространстве	плоское
18	Язычковый цветок: длина	средняя
19	Язычковый цветок: окраска	оранжево-желтая
20	Трубчатый цветок: окраска	желтая
21	Трубчатый цветок: антоциановая окраска рыльца	отсутствует
22	Трубчатый цветок: интенсивность антоциановой окраски	отсутствует
23	Трубчатый цветок: образование пыльцы	имеется
24	Листочек обертки: форма	явно округлая
25	Листочек обертки: длина кончика	средняя
26	Листочек обертки: зеленая окраска внешней стороны	светлая
27	Листочек обертки: положение по отношению к корзинке	слабо охватывает
28	Растение: высота (при созревании)	средняя
29	Растение: ветвление	отсутствует
30	Растение: тип ветвления	отсутствует
31	Растение: естественное положение наивысшей боковой корзинки к центральной корзинке	отсутствует
32	Корзинка: положение	повернутая вниз с прямым стеблем
33	Корзинка: размер	большая
34	Корзинка: форма семенной стороны	сильновыпуклая
35	Семянка: размер	средняя
36	Семянка: форма	узкойцевидная
37	Семянка: толщина относительно ширины	средняя
38	Семянка: основная окраска	черная
39	Семянка: краевые полосы	сильно выражены
40	Семянка: полосы между краями	сильно выражены
41	Семянка: окраска полосок	серые
42	Семянка: пятна на семенной кожуре	отсутствуют

При сравнении основных селекционных признаков продуктивности линии ВК1-ими с материнскими формами одной группы спелости были получены данные о приемлемом для эффективной семеноводческой работы уровне значений этих признаков, например урожайности семян, что важно для участков гибридизации, около 0,94 т/га (Таблица 4.5).

Таблица 4.5 – Характеристика константных материнских линий подсолнечника

АрОС ВНИИМК, 2012-2014 гг.

Линия	Период всх.- физиол. спелость, сутки	Высота растений, м	Диаметр корзинки, см	Масса 1000 семян, г	Урожайность, т/га	Масличность, %
ВК1-ими	94	1,05	23,3	48,2	0,94	39,9
ВА 6	97	1,06	26,1	50,8	0,91	38,7
ВА 4	97	1,12	24,0	45,9	0,82	40,3
НСР ₀₅	-	-	-	5,74	0,19	2,31

Имидазолиноустойчивая отцовская линия подсолнечника ВК21-ими (Приложение 12) была получена на основе скрещивания в 2006 г. селекционной формы ВА325, обладающей высокой комбинационной способностью, с инбредной линией лаборатории генетики *imi-R* (F₄ RHA426× ВК580), являющейся донором доминантного гена устойчивости к имидазолиновым гербицидам (*Imr*), возвратных скрещиваний на ВА325 и принудительного самоопыления в сочетании с отбором рекомбинантных гетеро- и гомозигот по комплексу хозяйственно ценных признаков (Рисунок 4.7).

Константная инбредная линия восстановитель фертильности пыльцы ВК21-ими обладает рецессивным ветвлением, устойчивостью к ложной мучнистой росе (раса 330), толерантностью к фомопсису и высокой комбинационной способностью. Вегетационный период от всходов до цветения равен 53 и до физиологической спелости – 93 дня, высота растений

около 115 см, масличность семян составляет 49%, лужистость – 22%, масса 1000 штук – 48 г.

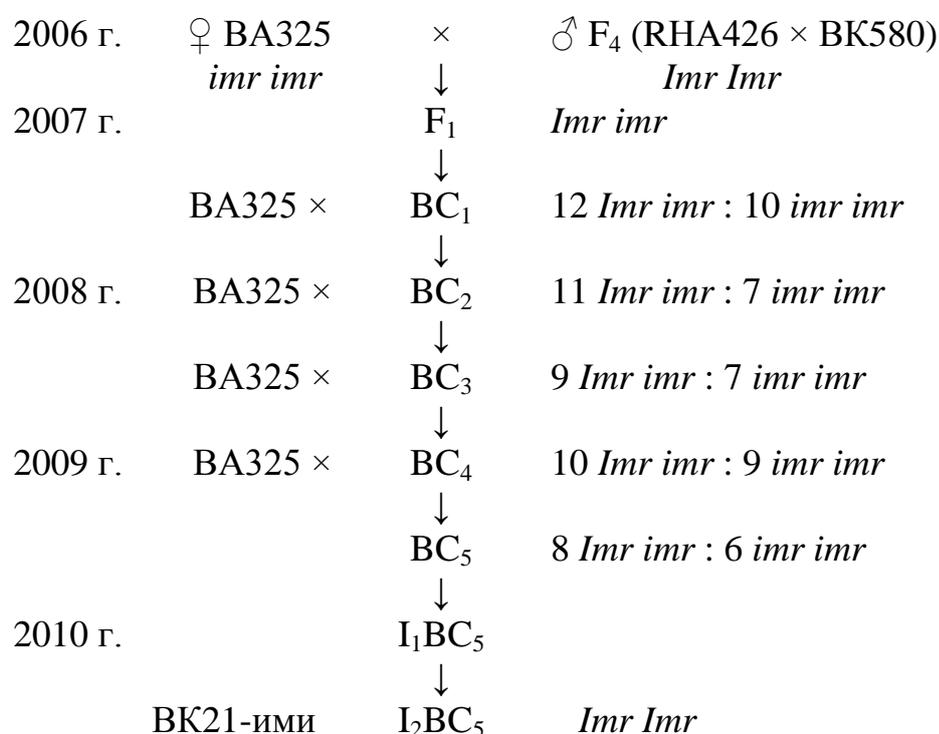


Рисунок 4.7 – Схема получения отцовской линии BK21-ими, имидазолиноустойчивого аналога ВА325

Главной особенностью отцовской линии BK21-ими является её наследственная устойчивость к гербицидам имидазолинонового ряда за счёт гомозиготного состояния гена *Imr*, что позволяет использовать ее в селекции подсолнечника для получения гибридов, выращиваемых по технологии Clearfield®. Морфологические особенности линии BK21-ими представлены в виде описания 42-х признаков (Таблица 4.6), а также в виде фотографий в Приложении 4, 5 и 6.

Таблица 4.6 – Характеристика линии ВК21-ими по форме Госкомиссии RTG № 0081_2 ПОДСОЛНЕЧНИК

ВНИИМК, 2010-2011 гг.

Признак		Проявление
1	Гипокотиль: антоциановая окраска	имеется
2	Гипокотиль: интенсивность антоциановой окраски	слабая
3	Лист: размер	мелкий
4	Лист: зеленая окраска	светлая
5	Лист: пузырчатость	средняя
6	Лист: зубчатость	мелкая
7	Лист: форма поперечного сечения	вогнутый
8	Лист: форма верхушки	остроконечная
9	Лист: размер ушек	средний
10	Лист: боковые крыльевидные сегменты	слабо выражены
11	Лист: угол между нижними боковыми жилками	прямой
12	Лист: высота кончика пластинки относительно прикрепления черешка (на 2/3 высоты растения)	на одном уровне
13	Стебель: опушение в верхней части (последние 5 см)	слабое
14	Время цветения	среднее
15	Язычковые цветки: плотность	рыхлые
16	Язычковый цветок: форма	веретенообразный
17	Язычковый цветок: расположение в пространстве	плоское
18	Язычковый цветок: длина	средняя
19	Язычковый цветок: окраска	желтая
20	Трубчатый цветок: окраска	желтая
21	Трубчатый цветок: антоциановая окраска рыльца	имеется
22	Трубчатый цветок: интенсивность антоциановой окраски	слабая
23	Трубчатый цветок: образование пыльцы	имеется
24	Листочек обертки: форма	не явно округлый
25	Листочек обертки: длина кончика	средняя
26	Листочек обертки: зеленая окраска внешней стороны	светлая
27	Листочек обертки: положение по отношению к корзинке	слабо охватывает
28	Растение: высота (при созревании)	средняя
29	Растение: ветвление	имеется
30	Растение: тип ветвления	преимущественно верхушечное
31	Растение: положение наивысшей боковой корзинки к центральной корзинке	на одном уровне
32	Корзинка: положение	повернутая вниз с прямым стеблем
33	Корзинка: размер	маленькая
34	Корзинка: форма семенной стороны	сильновыпуклая
35	Семянка: размер	средняя
36	Семянка: форма	узкойцевидная
37	Семянка: толщина относительно ширины	средняя
38	Семянка: основная окраска	черная
39	Семянка: краевые полосы	слабо выражены
40	Семянка: полосы между краями	слабо выражены
41	Семянка: окраска полосок	серые
42	Семянка: пятна на семенной коже	отсутствуют

При сравнении основных селекционных признаков продуктивности линии ВК21-ими с отцовскими формами одной группы спелости были получены данные о приемлемом для эффективной семеноводческой работы уровне значений этих признаков, например урожайности семян около 0,88 т/га (Таблица 4.7). Кроме того, начало цветения раньше на один день отцовской линии позволяет использовать одновременный посев родительских форм ВК1-ими А и ВК21-ими на участке гибридизации.

Таблица 4.7 – Характеристика константных отцовских линий подсолнечника

АрОС ВНИИМК, 2012-2014 гг.

Линия	Период всх.-физиол. спелость, сутки	Высота растений, м	Масса 1000 семян, г	Урожайность, т/га	Масличность, %
ВК21-ими	93	1,15	37,8	0,88	49,1
ВА337	94	1,24	35,5	0,87	50,1
ВА570	94	1,22	34,0	0,82	49,4
НСР ₀₅				0,14	

После создания родительских линий, устойчивых к имидазолинонам, следовало перейти к изучению межлинейного гибрида F₁ от скрещивания между ними.

4.3 Создание и изучение гибрида подсолнечника Арими в производственной системе Clearfield®

Семена F₁ гибрида Арими были получены при скрещивании ЦМС-аналога материнской линии ВК1-ими А с отцовской формой ВК21-ими при использовании индивидуальных и групповых сетчатых изоляторов для контролируемого опыления.

Поскольку гибрид Арими генетически близок к созданному ранее урожайному Беркуту (Таблица 4.8), являясь его имидазолиноноустойчивым аналогом, изучение продуктивности гибрида Арими предполагалось

проводить в условиях именно производственной системы Clearfield®, для которой он был создан.

Таблица 4.8 – Результаты конкурсного сортоиспытания гибридов
подсолнечника

АрОС ВНИИМК, 2005-2007 гг.

Гибрид	Период всх.- физиол. спелость, сутки	Высота растений, м	Урожай- ность, т/га	Маслич- ность, %	Сбор масла, т/га
Темп	90	1,68	2,78	48,9	1,28
Арол	91	1,90	2,90	48,3	1,32
Барс	91	1,75	3,03	49,1	1,40
Беркут	90	1,73	3,05	49,6	1,43
НСР ₀₅			0,22		

Однако при этом возникли методические проблемы, связанные с отсутствием отечественных контрольных генотипов, необходимостью качественной обработки растений подсолнечника гербицидом механизированным опрыскивателем на фазе трех пар настоящих листьев с соблюдением технологического регламента, гибелью обычных неустойчивых генотипов. В частности, Госкомиссия РФ по сортоиспытанию изучала гибрид Арими в 2012-2013 гг. как обычный генотип, поскольку не было возможности его испытания в условиях технологии Clearfield®.

Во ВНИИМК были выполнены все агрономические требования для использования этой производственной системы в 2011-2014 гг.

Испытание хозяйственно ценных признаков гибрида Арими проводили при обработке растений гербицидом Евро-Лайтнинг в однократной дозе 1х (1л/га) на фазе трех пар настоящих листьев в 3-х кратной повторности на 4-х рядных делянках (два центральных ряда учетные) при сеялочном посеве с нормой высева 60 тыс. семян на одном гектаре.

Изучение биологической продуктивности при ручной уборке отдельных растений показала, что гибрид Арими по сравнению с контролем

НК Неома обладал более коротким на 5 суток вегетационным периодом от всходов до физиологической спелости, меньшей на 7 см высотой растений и большим на 2 см диаметром корзинки (Таблица 4.9). При этом масса 1000 семян, их урожайность и масличность, а также сбор масла с гектара достоверно не различались.

Таблица 4.9 – Селекционная характеристика гибрида подсолнечника Арими при выращивании по технологии Clearfield® (Евро-Лайтнинг, 1х) при ручной уборке

ВНИИМК, 2011-2012 гг.

Признак	Арими			НК Неома (к)		
	2011 г.	2012 г.	среднее	2011 г.	2012 г.	среднее
Вегетационный период, сутки	92*	90*	91	97	95	96
Высота растений, см	172*	160*	166	178	167	173
Диаметр корзинки, см	18*	24*	21	16	22	19
Масса 1000 семян, г	40	45	43	42	49	46
Урожайность семян, т/га	3,0	3,3	3,2	2,6	3,5	3,1
Масличность семян, %	51,5	49,9	50,7	50,3	49,0	49,7
Сбор масла, т/га	1,4	1,7	1,6	1,3	1,8	1,6

* $p < 0,05$, отличия с контролем достоверны

Коэффициент вариации CV при этом был максимальным для признаков урожайности и массы семян с растения – 34 и 33 %, соответственно. С другой стороны, минимальные значения CV отмечены для признаков высоты растения и диаметра корзинки – 3 и 10 %.

В связи с отсутствием для гибрида Арими гербицидоустойчивого контроля с одинаковым вегетационным периодом возникли методические трудности при сравнении его урожайности, особенно при уборке комбайном. Общеизвестно, что увеличение периода вегетации физиологически повышает

урожайность, более того, одновременная уборка комбайном всех делянок увеличивает относительные потери семян более раннеспелых генотипов. Поэтому увеличение периода вегетации на 5 суток контрольного гибрида НК Брио сказалось на достоверном превышении его урожайности семян на 0,9 т/га за три года при одновременной уборке комбайном обоих гибридов (Таблица 4.10). Масличность семян при этом была одинаковой.

Таблица 4.10 – Урожайность гибрида подсолнечника Арими при выращивании по технологии Clearfield® (Евро-Лайтнинг, 1х) при уборке комбайном

ВНИИМК, 2011-2014 гг.

Гибрид	Урожайность семян, т/га				Масличность семян, %			
	2011	2012	2014	среднее	2011	2012	2014	среднее
Аrimi	2,4*	2,6*	2,1*	2,4	49,6	49,4	45,8	48,3
НК Неома (к)	2,9	3,4	3,6	3,3	50,3	46,8	47,5	47,4

* $p < 0,05$, отличия с контролем достоверны

Очевидно, оценка биологической урожайности семян при ручной уборке без технологических потерь в данном случае является более корректной (Таблица 4.9).

Таким образом, один из первых гербицидоустойчивых отечественных межлинейных гибридов подсолнечника Арими создан во ВНИИМК. Этот гибрид внесен в реестр допущенных к использованию в РФ и запатентован в 2014 г. (Приложение 13). Материнская линия ВК1-ими, включая стерильный аналог и закрепитель стерильности, а также отцовская форма ВК22-ими – восстановитель фертильности пыльцы, гомозиготны по полудоминантному гену *Imr*, контролирующему признак устойчивости к имидазолиновым гербицидам (Пульсар, Пивот, Евро-Лайтнинг).

Важно, что этот ген передан культурному подсолнечнику от дикорастущего вида традиционными селекционными методами

(гибридизация и отбор) и не связан с технологией получения генетически модифицированных организмов.

Гибрид Арими устойчив к заразихе (раса Е) и ложной мучнистой росе (раса 330), толерантен к фомопсису. Гибрид относится к среднеранней группе, вегетационный период от всходов до физиологической спелости составляет около 90 суток. Масличность семян равна 51%, лузжистость – 21%. По данным Госкомиссии, например в 2012 г., гибрид Арими в Краснодарском крае при выращивании по обычной технологии показал превышение на 2,4 ц/га по урожайности семян над контрольным сортом Березанский (25,5 и 23,1 ц/га, соответственно). Морфологические признаки гибрида Арими представлены в Таблице 4.11, Рисунке 4.8 и в Приложении 7, 8 и 9.



Рисунок 4.9 – Гибрид подсолнечника Арими на демонстрационном участке в фазу цветения (ЦЭБ ВНИИМК, г. Краснодар, 2013 г.)

Таблица 4.11 – Характеристика гибрида Арими по форме Госкомиссии RTG № 0081_2 ПОДСОЛНЕЧНИК

ВНИИМК, 2010-2011 гг.

	Признак	Проявление
1	Гипокотиль: антоциановая окраска	имеется
2	Гипокотиль: интенсивность антоциановой окраски	слабая
3	Лист: размер	крупный
4	Лист: зеленая окраска	средняя
5	Лист: пузырчатость	слабая
6	Лист: зубчатость	средняя
7	Лист: форма поперечного сечения	плоский
8	Лист: форма верхушки	остротреугольная
9	Лист: размер ушек	средний
10	Лист: боковые крыльевидные сегменты	слабо выражены
11	Лист: угол между нижними боковыми жилками	прямой
12	Лист: высота кончика пластинки относительно прикрепления черешка (на 2/3 высоты растения)	высокая
13	Стебель: опушение в верхней части (последние 5 см)	среднее
14	Время цветения	среднее
15	Язычковые цветки: плотность	средняя
16	Язычковый цветок: форма	узкойцевидный
17	Язычковый цветок: расположение в пространстве	плоское
18	Язычковый цветок: длина	средняя
19	Язычковый цветок: окраска	желтая
20	Трубчатый цветок: окраска	желтая
21	Трубчатый цветок: антоциановая окраска рыльца	отсутствует
22	Трубчатый цветок: интенсивность антоциановой окраски	-
23	Трубчатый цветок: образование пыльцы	имеется
24	Листочек обертки: форма	явно округлый
25	Листочек обертки: длина кончика	средняя
26	Листочек обертки: зеленая окраска внешней стороны	средняя
27	Листочек обертки: положение по отношению к корзинке	не охватывает
28	Растение: высота (при созревании)	высокое
29	Растение: ветвление	отсутствует
30	Растение: тип ветвления	-
31	Растение: положение наивысшей боковой корзинки к центральной корзинке	-
32	Корзинка: положение	повернутая вниз с изогнутым стеблем
33	Корзинка: размер	средняя
34	Корзинка: форма семенной стороны	сильновыпуклая
35	Семянка: размер	средняя
36	Семянка: форма	узкойцевидная
37	Семянка: толщина относительно ширины	средняя
38	Семянка: основная окраска	черная
39	Семянка: краевые полосы	сильно выражены
40	Семянка: полосы между краями	сильно выражены
41	Семянка: окраска полосок	серые
42	Семянка: пятна на семенной коже	отсутствуют

Таким образом, созданный гибрид подсолнечника Арими предназначен для выращивания в производственной системе Clearfield®, позволяющей бороться с широким спектром сорняков и новыми вирулентными расами заразики при послевсходовой обработке растений гербицидом Евро-Лайтнинг. При этом полномасштабного испытания урожайности гибрида Арими вне использования технологии Clearfield® не проводилось, т.к. базовый гибрид-аналог Беркут уже прошел все необходимые испытания и внесен в Госреестр допущенных к использованию в РФ. Важно, что при выращивании по этой технологии, основные селекционные параметры отечественного гибрида Арими были на уровне лучших мировых стандартов, таких как гибрид НК Неома.

5 КВАЛИФИКАЦИОННЫЙ ТЕСТ ГИБРИДА ПОДСОЛНЕЧНИКА АРИМИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ИМИДАЗОЛИНОНАМ

Главная цель данного раздела работы состояла в изучении симптомов фитотоксичности у одного из созданных нами первых отечественных имидазолиноноустойчивых гибридов подсолнечника Арими.

Степень гербицидоустойчивости растений связана со шкалой фитотоксичности гербицида. Оценка действия гербицида в баллах фитотоксичности проводилась по модифицированному нами методу через 12-14 дней после обработки: 0 – растения без симптомов повреждения; от 1 до 4 – увеличение степени хлороза листьев и снижение высоты растений; от 5 до 8 – появление морфологических аномалий и некроза листьев; 9 – полный некроз апекса и гибель растений.

Материалом исследования были: межлинейный гибрид селекции ВНИИМК Арими, а также лучшие устойчивые к имидазолинонам гибриды иностранных фирм – НК Неома и Римисол, использованные в качестве международного стандарта гербицидоустойчивости.

Обработка растений гербицидом Пульсар (40 г/л действующего вещества имазамокс) проводилась в фазе 3-х пар настоящих листьев с помощью ранцевого опрыскивателя в квалификационном полевом опыте на центральной экспериментальной базе ВНИИМК в 2013 г. Использовали дозы Пульсара: 0х – без обработки, 1х (1,25 л/га) и 2х (2,5 л/га).

Квалификационные испытания гербицидоустойчивых генотипов проводили, согласно рекомендациям фирмы BASF, при повышенных дозах действующих веществ. Это связано с тем, что для эффективного использования гибрида в агротехнологии Clearfield® требуется его способность выдерживать одинарную (1х) и даже двойную (2х) от рекомендуемой в производстве дозы. Например, для гербицида Пульсар это будет 50 г и 100 г/га действующего вещества имазамокс, соответственно.

В нашем эксперименте контрольные растения восприимчивого (не устойчивого) сорта Мастер показали максимальные значения индекса фитотоксичности в 8,1 балла для дозы 1х и в 8,9 балла для дозы 2х (Таблица 5.1) при полной остановке роста стебля (Таблица 5.2) и гибели растений. Все три имидазолиноустойчивых гибрида НК Неома, Римисол и Арими характеризовались в изученных дозах умеренной толерантностью с баллами фитотоксичности от 0,6 до 1,1 и от 2,0 до 2,5, соответственно (Таблица 5.1, Рисунок 5.1). При этом для дозы 1х произошло статистически достоверное снижение высоты растений, в среднем для гибридов, на 3 см, а в дозе 2х - на 8 см (Таблица 5.2). В относительном выражении это уменьшение высоты оценивается в 7 и 27%, соответственно.

Таблица 5.1 - Индекс фитотоксичности у имидазолиноустойчивых гибридов и неустойчивого сорта (к) подсолнечника, обработанных Пульсаром в различных дозах: 0х, 1х (1,25 л/га) и 2х (2,5 л/га) через 12 дней после обработки

ЦЭБ ВНИИМК, 2013 г.

Генотип	Индекс фитотоксичности, балл			НСР ₀₅
	0х	1х	2х	
Мастер (к)	0	8,1	8,9	0,3
НК Неома	0	1,0	2,0	0,6
Римисол	0	1,1	2,5	0,5
Аrimi	0	1,0	2,2	0,1



Рисунок 5.1 – Растения подсолнечника после обработки Пульсаром в дозе 1х (1,25 л/га) через 12 дней после обработки: неустойчивый сорт Мастер, гибриды НК Неома и Арими (расположение фотографий сверху вниз)

Таблица 5.2 - Высота растений имидазолиноустойчивых гибридов подсолнечника, обработанных Пульсаром в различных дозах: 0х, 1х (1,25 л/га) и 2х (2,5 л/га) через 12 дней после обработки

ЦЭБ ВНИИМК, 2013 г.

Генотип	Высота растений, см				
	0х	1х		2х	
	среднее	среднее	± 0х	среднее	± 0х
Мастер (к)	31	8	- 23*	7	- 24*
НК Неома	30	27	- 3*	21	- 9*
Римисол	26	24	- 2*	18	- 8*
Арими	32	28	- 4*	25	- 7*

* - $p < 0,05$, различия достоверны

Отсутствие достоверных отличий по баллам фитотоксичности между изученными гибридами указывает, вероятно, на одинаковую генотипическую среду по т.н. нецелевым признакам толерантности. Этот факт имеет большое значение, поскольку в научных дискуссиях часто упоминается предположение о потенциальном существовании генов-усилителей устойчивости.

Таким образом, использование 9-ти балльной шкалы фитотоксичности для гербицида Пульсар по отношению к имидазолиноустойчивым гибридам подсолнечника позволило количественно оценить симптомы повреждения растений через 12 дней после обработки. Отечественный гибрид Арими характеризовался при этом аналогичной степенью устойчивости к Пульсару по сравнению со стандартными импортными гибридами. Все использованные в изучении имидазолиноустойчивые гибриды выдержали максимальную однократную (50 г/га д.в. имазамокс), а также двукратную (100 г/га) дозу Пульсара, показывая при этом умеренную толерантность по баллам шкалы фитотоксичности.

Более того, дополнительное международное испытание гибрида Арими специалистами фирмы BASF подтвердило наши результаты и также показало пригодность его использования для технологии выращивания Clearfield® при послевсходовой обработке растений имидазолиноновыми гербицидами, включая допущенный к использованию на подсолнечнике в России Евро-Лайтнинг (Приложение 14).

В целом, данные квалификационного теста межлинейного гибрида подсолнечника Арими по шкале фитотоксичности позволяют обоснованно рекомендовать его к использованию в производственной системе Clearfield®.

Таким образом, в процессе нашей многолетней экспериментальной работы были созданы и изучены родительские линии с высокой резистентностью к имидазолиноновым гербицидам, подобраны и апробированы схемы селектирования гербицидоустойчивых аналогов линий на основе беккроссов, создан и изучен гибрид Арими, внесенный в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию в РФ, который предназначен для выращивания по производственной системе Clearfield®.

ВЫВОДЫ

1. При скрининге около 480000 растений подсолнечника трёх сортов-популяций (Родник, Мастер, Орешек) и семи линий (ВК276, ВК678, ВА6, ВА760, ВК580, ВК585, ВА384), обработанных гербицидом Пульсар (1 л/га) на площади 10 га, не было обнаружено ни одного типичного растения посеянных генотипов с признаком устойчивости к имидазолинонам. Потенциальная частота встречаемости доминантных генов гербицидоустойчивости при этом в селекционном генофонде ЦЭБ ВНИИМК оценивается менее чем 5×10^{-6} (1:200000), а в линиях Армавирской опытной станции – менее чем 4×10^{-6} (1:280000).
2. Создана имидазолиноноустойчивая материнская линия подсолнечника ВК1-ими на основе введения путем пяти этапов беккроссов в селекционную линию ВА93 полудоминантного гена устойчивости к гербицидам *Imr*. Линия ВК1-ими представлена фертильным и стерильным на основе цитоплазмы РЕТ1 аналогами.
3. Создана имидазолиноноустойчивая отцовская линия подсолнечника ВК21-ими на основе введения путем пяти этапов беккроссов в селекционную линию ВА325 гена *Imr*. Линия ВК21-ими обладает признаками восстановления фертильности пыльцы и рецессивного ветвления стебля.
4. Генетическая формула созданного простого межлинейного гибрида подсолнечника Арими (ВК1-ими А × ВК21-ими), гомозиготного по гену *Imr*, позволяет использовать как родительские линии, так и гибрид в производственной системе Clearfield®.
5. При выращивании гибрида Арими по технологии Clearfield® с обработкой растений гербицидом Евро-Лайтнинг (1л/га) в конкурсном сортоиспытании урожайность семян составила 3,2 т/га при их масличности 51 % и сборе масла 1,6 т/га, что не уступало уровню мирового стандарта гибрида НК Неома.

6. Гибрид подсолнечника Арими является одним из первых отечественных имидазолиноустойчивых гибридов, внесен в Госреестр допущенных к использованию в РФ и зарегистрирован в реестре охраняемых селекционных достижений с 2014 г.
7. Гибрид подсолнечника Арими получен как имидазолиноустойчивый аналог гибрида Беркут, относится к среднеранней группе, вегетационный период от всходов до физиологической спелости составляет 90 дней при высоте растений равной 170 см.
8. Квалификационное испытание гибрида Арими по регламенту фирмы BASF при обработке растений как одинарной, так и двойной дозой гербицида Пульсар (50 г и 100 г/га действующего вещества имазамокс, соответственно) показало полное соответствие степени гербицидоустойчивости гибрида Арими по шкале фитотоксичности стандартным гибридам НК Неома и Римисол.

РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОЙ ПРАКТИКИ

1. Использовать родительские линии ВК1-ими и ВК21-ими и гибрид подсолнечника Арими в качестве исходного селекционного материала для создания новых линий и гибридов подсолнечника, устойчивых к имидазолиновым гербицидам.
2. Использовать в семеноводческих посевах линии ВК1-ими и ВК21-ими при их размножении, а также на участках гибридизации, по технологии выращивания Clearfield® для борьбы не только с сорняками и болезнями, но и гербицидонеустойчивой падалицей подсолнечника с целью повышения генетической чистоты выращиваемых семян.
3. Использовать в селекции подсолнечника для идентификации урожайных генотипов по фенотипу отдельных растений масличность ядер семян и надземную вегетативную биомассу как фоновые признаки для повышения эффективности отбора в условиях различной площади питания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агроклиматические ресурсы Краснодарского края. – Л.: Гидрометеиздат, 1975. – 276 с.
2. Архивные данные температуры воздуха и количества осадков по метеостанции г. Армавира (№ 37031) за 1936-2005 гг. [электронный ресурс]. Режим доступа: http://thermograph.ru/mon/st_37031-y.htm. Дата обращения: 15.04.2015.
3. Архивные данные температуры воздуха и количества осадков по метеостанции г. Армавира (№ 37031) за 2006-2014 гг. [электронный ресурс]. Режим доступа: http://rp5.ru/Архив_погоды_в_Армави́ре,_Россия. Дата обращения: 15.04.2015.
4. Анащенко, А.В. Коллекция дикорастущего подсолнечника и пути её использования в селекции/ А.В. Анащенко, А.И. Попова // Сельскохозяйственная биология. – 1985. – №10. – С. 9-11.
5. Антонова, Т.С. Селекция подсолнечника на иммунитет / Т.С. Антонова // История научных исследований во ВНИИМКе. – Краснодар, 2003. – С. 253-273.
6. Батова, В.М. Агроклиматические ресурсы Северного Кавказа / В.М. Батова. – Л.: Гидрометеиздат, 1996. – 321 с.
7. Бочкарев, Н.И. Мужская стерильность / Н.И. Бочкарев, Л.Г. Цухло // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 49-52.
8. Бочкарев, Н.И. Генетика подсолнечника и пути оптимизации его селекции и семеноводства / Н.И. Бочкарев, В.В. Толмачев, Л.Г. Цухло // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 39-44.

9. Бочковой, А.Д. Семеноводство гибридов подсолнечника / А.Д. Бочковой // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 160-162.
10. Бочковой, А.Д. Гибридный подсолнечник / А.Д. Бочковой // История научных исследований во ВНИИМК за 90 лет. – Краснодар: Печатный двор Кубани, 2003. – С. 23-44.
11. Бочковой, А.Д. Результаты и перспективы селекционно-семеноводческой работы с гибридным подсолнечником во ВНИИМК / А.Д. Бочковой // Сб. докл. Междунар. практич. конф. «Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника». – Краснодар, 2006. – С. 88-93.
12. Бочковой, А.Д. Состояние и проблемы семеноводства гибридного подсолнечника во ВНИИМК / А.Д. Бочковой // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2011. – Вып. 2 (148-149). – С. 23-27.
13. Васильев, Д.С. Химические способы борьбы с сорняками на посевах масличных и эфиромасличных культур / Д.С. Васильев // Масличные культуры. Труды за 1912-1962 гг. – М.: Колос, 1963. – С. 424-434.
14. Велецкий, И.Н. Технология применения гербицидов / И.Н. Велецкий. – Л.: Агропромиздат, 1989. – 203 с.
15. Гаврилова, В.А. Генофонд подсолнечника / В.А. Гаврилова // НТБ ВНИИМК. – Краснодар, 1991. – Вып. 4. – С. 36-39.
16. Гаврилова, В.А. Короткостебельные линии подсолнечника коллекции ВИР / В.А. Гаврилова, А.Л. Есаев, В.Т. Рожкова // Ботаника, генетика и селекция технических культур: Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – ВИРб, 1999. – Т. 156. – С. 14-19.
17. Гаврилова, В.А. Генетика культурных растений: подсолнечник / В.А. Гаврилова, И.Н. Анисимова. – СПб, 2003. – 197 с.
18. Гончаров, С.В. Селекция гибридов подсолнечника с высоким содержанием олеиновой кислоты в масле во ВНИИМК / С.В. Гончаров

- // Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника: междунар. науч.-практ. конф. (19-22 июля 2006 г.) / ВНИИ масличных культур. – Краснодар, 2006. – С. 94-96.
19. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации. – М.: Госхимкомиссия Минсельхоза России, 2001. – 319 с.
 20. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в Российской Федерации [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.gosort.com/ree_cont.html (дата обращения: 06.05.2015).
 21. Гриднев, А.К. Влияние уровня генетической чистоты семян на урожайные и технологические свойства гибридов подсолнечника / А.К. Гриднев // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2008. – Вып. 2 (139). – С. 7-10.
 22. Гундаев, А.И. Основные принципы селекции подсолнечника / А.И. Гундаев // Генетические основы селекции растений. – М.: Наука. – 1971. – С. 417-465.
 23. Демурин, Я.Н. Передача гена устойчивости к имидазолиновым гербицидам в селекционный материал подсолнечника во ВНИИМК / Я.Н. Демурин, А.А. Перстенёва // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Вып. 2 (137). – Краснодар, 2007. – С. 18-22.
 24. Демурин, Я.Н. Способ отбора гетерозиготных имидазолиноустойчивых растений подсолнечника в условиях фитотрона / Я.Н. Демурин, А.А. Перстенёва // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2009. – Вып. 1 (140). – С. 21-26.
 25. Демурин, Я.Н. Влияние ALS-ингибиторов на клубеньки заразики у гербицидоустойчивых линий подсолнечника / Я.Н. Демурин, А.А. Перстенёва // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2011. – Вып. №1 (146-147). – С. 134-138.

26. Демурин, Я.Н. Гаметоцидный эффект имидазолинонов у гербицидоустойчивого подсолнечника / Я.Н. Демурин, А.А. Перстенёва, О.М. Борисенко // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2012. – Вып. №1 (150). – С. 31-34.
27. Демурин, Я.Н. Шкала фитотоксичности ALS-ингибирующих гербицидов у подсолнечника / Я.Н. Демурин, А.С. Тронин, Н.А. Пикалова // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2013. – Вып. 2 (155-156). – С. 24-27.
28. Дьяков, А.Б. Идиотип растений и параметры создаваемых гибридов подсолнечника / А.Б. Дьяков // Масличные культуры. – 1985. – № 3. – С. 30-33.
29. Дьяков, А.Б. Количественные хозяйственные признаки / А.Б. Дьяков // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 52-57.
30. Дьяков, А.Б. Идеальный морфофизиологический тип растений создаваемых сортов и гибридов / А.Б. Дьяков // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 68-72.
31. Дьяков, А.Б. Принципы и методы селекционной идентификации желательных генотипов / А.Б. Дьяков // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 72-77.
32. Дьяков, А.Б. Исследования по физиологии и генетике масличных растений / А.Б. Дьяков // История научных исследований во ВНИИМК за 90 лет. – Краснодар: Печатный двор Кубани, 2003. – С. 178-192.
33. Дьяков, А.Б. Параметры генотипической изменчивости оценок урожайности как критерии агроэкологической биоиндикации территорий / А.Б. Дьяков, В.В. Гронин, А.А. Борсуков // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2011. – Вып. 1 (146-147). – С. 3-15.
34. Дьяков, А.Б. Способ разграничения ареалов возделывания гибридов подсолнечника, адаптированных к низкоурожайным и

- высокоурожайным условиям / А.Б. Дьяков, А.А. Борсуков // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2013. – Вып. 2 (155-156). – С. 52-63.
35. Дьяков, А.Б. Особенности адаптивных реакций подсолнечника на условия почвенно-климатических зон Краснодарского края / А.Б. Дьяков, Т.А. Васильева // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2013. – Вып. 1 (153-154). – С. 3-16.
36. Дьяков, А.Б. Особенности адаптивных реакций гибридов подсолнечника на условия экстремальной засухи 2012 года на европейской территории России / А.Б. Дьяков, А.А. Борсуков // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2014. – Вып. 2 (159-160). – С. 3-26.
37. Евро-Лайтнинг. Двигатель максимальной рентабельности. – BASF, 2007. – 4 с.
38. Жданов, Л.А. О селекции подсолнечника на низкорослость / Л.А. Жданов // Селекция и семеноводство. – 1970. – № 1. – С. 27-32.
39. Жученко, А.А. Адаптивная система селекции растений. Эколого-генетические основы / А.А. Жученко; – М.: РУДН, 2001. – Т. 2. – 708 с.
40. Жученко, А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы. Теория и практика / А.А. Жученко; – М.: Агрорус, 2004. – Т. 1. – 690 с.
41. Зайцев, Н.И. Особенности селекции и технологии выращивания семян масличных культур в зоне неустойчивого увлажнения Северного Кавказа / Н.И. Зайцев. – Ростов-н/Д: ООО «АзовПечать», 2012. – 136 с.
42. Захаренко, В.А. Гербициды / В.А. Захаренко; – М.: Агропромиздат, 1990. – 415 с.
43. Захаренко, В.А. Справочник по применению гербицидов / В.А. Захаренко, А.Ф. Ченкин; – М.: Московский рабочий, 1982. – С. 3-4, 160.

44. Золотников, А.К. Альбит повышает эффективность применения гербицидов / А.К. Золотников, В.Р. Сергеев, Н.А. Кудрявцев [и др.] // Земледелие. – 2006. – №1. – С. 34-36.
45. Исаева, Л.И. Повышение безопасности гербицидов для культурных растений (зарубежный опыт) / Л.И. Исаева // Агропромышленное производство: опыт, проблемы и тенденции развития. – М., 1988. – №1. – С. 35-44.
46. Инге-Вечтомов, С.Г. Генетика с основами селекции / С.Г. Инге-Вечтомов; – М.: Высшая школа, 1989. – 591 с.
47. Камоликова, Ю.А. Динамика засорённости посевов подсолнечника на протяжении вегетационного периода в условиях Краснодара / Ю.А. Камоликова, С.И. Лучинский // Масличные культуры.– Краснодар, 2006. – №1 (134). – С. 125-128.
48. Каспаров, В.А. Применение пестицидов за рубежом / В.А. Каспаров, В.К. Промоненков; – М.: Агропромиздат, 1990. – 181 с.
49. Клюка, В.И. Влияние почвенно-климатических условий зон выращивания и густоты растений в посевах на показатели структуры урожая гибридов подсолнечника отечественной и зарубежной селекции / В.И. Клюка, С.Н. Бандюк // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2010. – Вып. 2 (144-145). – С. 49-54.
50. Кривошлыков, К.М. Анализ формирования сырьевого сектора масложирового подкомплекса АПК России в современных условиях / К.М. Кривошлыков // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2014. – Вып. 1 (157-158). – С. 144-152.
51. Косенко, И.С. Сорные растения и борьба с ними / И.С. Косенко, Д.С. Васильев; – Краснодар, 1971. – 436 с.
52. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин; – М.: Высшая школа, 1990 – 348 с.

53. Лобачев, Ю.В. Создание генетической коллекции подсолнечника / Ю.В. Лобачев, В.Ф. Пимахин., В.М. Лекарев [и др.] // Репродуктивная биология, генетика и селекция. – Саратов, 2002. – С. 102-106.
54. Лукашев, А.И. Применение гербицидов на посевах масличных культур в Ростовской области / А.И. Лукашев, Д.Н. Белевцев, В.И. Медведев [и др.] // Применение гербицидов на посевах масличных культур – Краснодар, 1975. – С. 46-50.
55. Материалы комплексного агрохимического обследования почв ГНУ АОС ВНИИМК г. Армавира Краснодарского края. – Гулькевичи: ФГУ станция агрохимической службы «Кавказская», 2011. – 13 с.
56. Мельников, Н.Н. Химические средства защиты растений / Н.Н. Мельников, К.В. Новожилов, Т.Н. Пылова; – М.: Химия, 1980. – 288 с.
57. Мережко, А.Ф. Проблема доноров в селекции растений / А.Ф. Мережко; – СПб: ВИР, 1994. – 125 с.
58. Пересадыко, М.С. Закономерности реакции новых гибридов подсолнечника на фон минерального питания и нормы высева семян / М.С. Пересадыко // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2009. – Вып. 2 (141). – С. 31-35.
59. Перстенёва, А.А. Гербицидоустойчивый подсолнечник в борьбе с сорняками / А.А. Перстенёва // Современное состояние и приоритеты развития фундаментальных наук в регионах: труды III Всероссийской научной конференции молодых учёных и студентов. – Краснодар, 2006. – С. 56-57.
60. Перстенёва, А.А. Оценка влияния имидазолинонов на поражение заразой гербицидоустойчивых растений подсолнечника / А.А. Перстенёва // Актуальные вопросы селекции, технологии и переработки масличных культур: сборник материалов 4-й международной конференции молодых учёных и специалистов. – Краснодар, 2007. – С. 204-206.

61. Перстенёва, А.А. Способ борьбы с заразой при использовании гербицидоустойчивого подсолнечника / А.А. Перстенёва // Научное обеспечение агропромышленного комплекса: материалы I Всероссийской научно-практической конференции молодых учёных. – Краснодар, 2007. – С. 514-516.
62. Перстенёва, А.А. Тест на сцепление генов *Imr* с *Ol*, *tph1* и *tph2* мутациями у подсолнечника / А.А. Перстенёва // Современное состояние и приоритеты развития фундаментальных наук в регионах: труды IV Всероссийской научной конференции молодых учёных и студентов. – Краснодар, 2007. – С. 87-89.
63. Перстенёва, А.А. Генетические основы применения производственной системы CLEARFIELD на подсолнечнике / А.А. Перстенёва // Современное состояние и приоритеты развития фундаментальных наук в регионах: труды V Всероссийской научной конференции молодых учёных и студентов. – Краснодар, 2008. – С.81-83.
64. Перстенёва, А.А. Зависимость «доза-эффект» при обработке растений подсолнечника гербицидом Пульсар / А.А. Перстенёва // Перспективные направления исследований в селекции и технологии возделывания масличных культур: сборник 5-й международной конференции молодых учёных и специалистов. – Краснодар, 2009. – С. 154-157.
65. Пятина, М.Р. Современный уровень и перспективные направления защиты сельскохозяйственных культур от нежелательных последствий применения гербицидов / М.Р. Пятина, Н.Л. Познанская, В.К. Промоненков [и др.] // Агрехимия. – М., 1986. – №4. – С. 107-139.
66. Почвенное обследование Армавирской опытной станции НПО по масличным культурам г. Армавира Краснодарского края и рекомендации по их использованию. – Краснодар: Кубаньгипрозем, 1983. – 44 с.

67. Практикум по химической защите растений (под ред. Г.С. Груздева) – Москва: "Колос". – 1992. – 271 с.
68. Пустовойт, В.С. Основные этапы селекции подсолнечника / В.С. Пустовойт // Подсолнечник. – М., 1975. – С. 136-139.
69. Пустовойт, Г.В. Использование диких видов *Helianthus* в селекции / Г.В. Пустовойт., Э.Л. Слюсарь // Бюл. ВИР. – 1977. – Вып. 69. – С. 11-19.
70. Ремпе, Е.Х. Регуляторы роста растений как фактор снижения негативного действия гербицидов / Е.Х. Ремпе, Л.П. Воронина, Л.К. Батурина // Агрoхимия. – М., 1999. – №3. – С. 64-68.
71. Реньо, И. Борьба с сорняками на подсолнечнике во Франции / И. Реньо // Материалы 7-ой межд. конференции по подсолнечнику. – М., Колос, 1978. – С. 302-305.
72. Рожкова, В.Т. Мировая коллекция подсолнечника – ценный исходный материал для селекции / В.Т. Рожкова, Р.М. Кошелева // V съезд Всесоюз. общества генетиков и селекционеров: тез. докл. – М., 1987. – Т.4. – С. 164.
73. Синская, Е.Н. Исследование биологии развития и физиологии масличных и эфиромасличных культур / Е.Н. Синская // В кн.: Масличные и эфиромасличные культуры. – М.: Изд-во с/х литературы. – 1963. – С. 225-234.
74. Солдатов, К.И. Высокоолеиновый сорт подсолнечника Первенец / К.И. Солдатов, Л.К. Воскобойник, Л.Н. Харченко // Бюл. НТИ по масличным культурам. – Краснодар. – 1976. – Вып.3. – С. 3-7.
75. Солдатов, К.И. Создание карликовых и полукарликовых мутантных форм подсолнечника / К.И. Солдатов, А.А. Калайджян // Химический мутагенез и проблемы селекции. – М.: Наука, 1991. – С. 208-212.
76. Ткаченко, П.И. Методика и техника селекционного процесса / П.И. Ткаченко, В.А. Литвиненко, А.Ф. Матиенко, А.Д. Бочковой //

- Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1991. – С. 142-160.
77. Толмачев, В.В. Использование коллекции подсолнечника в селекции и частной генетике / В.В. Толмачёв, М.С. Бигун, З.И. Лебедь // НТБ ИМК УААН. – Запорожье, 1998. – Вып. 3. – С. 60-62.
78. Угрюмов, Е.П. Гербициды последнего поколения: изыскание, применение, проблемы агроэкологической безопасности / Е.П. Угрюмов, А.П. Савва // Актуальные вопросы биологизации растений. – Пушино, 2000. – С. 139-152.
79. Хатнянский, В.И. Влияние гербицидов на поражаемость подсолнечника заразихой / В.И. Хатнянский, А.И. Дряхлов, Н.П. Селиванова // НТБ ВНИИМК. – Краснодар, 1986. – №4 (95) – С. 31-33.
80. Энеев, М.Д. Адаптивность отечественных сортов и гибридов подсолнечника к высоким температурам и засухе / М.Д. Энеев // Масличные культуры (НТБ ВНИИМК). – Краснодар, 2009. – Вып. 2 (141). – С. 29-31.
81. Al-Khatib, K. Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus* L.) / K. Al-Khatib, J.R. Baumgartner, D.E. Peterson [et al.] // Weed Science. – 1998. – №46. – P. 403-407.
82. Alonso, L.C. Chemical control of broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) in sunflower (*Helianthus annuus* L.) resistant to imazethapyr herbicide / L.C. Alonso, M.I Rodriguez-Ojeda, J. Fernandez-Escobar, G. Lopez-Ruiz-Calero // Helia. – 1998. – Vol. 21 (29). – P. 45-54.
83. Baumgartner, J. R. Survey of common sunflower (*Helianthus annuus*) resistance to imazethapyr and chlorimuron in Northeast Kansas / J. R. Baumgartner, K. Al-Khatib, R.S. Currie // Weed Technology. – 1999. – № 13. – P. 510-514.
84. Bertero de Romano, A. Origin of the Argentina sunflower varieties / A. Bertero de Romano, A.N. Vazquez // Helia. – 2003. – Vol.26 (38). – P. 127-136.

85. Bruniard, J. M. Inheritance of imidazolinone-herbicide resistance in sunflower / J.M. Bruniard, J.F. Miller // *Helia*. – 2001. – Vol. 24. – P. 11-16.
86. Chikkadevaiah, C.Y. Evaluation of sunflower genotypes for confectionery purpose / C.Y. Chikkadevaiah, D.P. Jagannath // *Helia*. – 1998. – Vol. 21 (29). – P. 131-136.
87. Demurin, Y.N. Gene linkage test for *Imr* with *Ol*, *tph1* and *tph2* mutations in sunflower / Y.N. Demurin, O.M. Borisenko, T.M. Peretyagina, A.A. Perstenyeva // *Helia*. – 2006. – Vol. 29 (44). – P. 41-46.
88. Demurin, Y.N. Effect of imidazolinones on broomrape tubercles in sunflower / Y.N. Demurin, A.A. Perstenyeva // Proceedings of the International Symposium on Sunflower Breeding on Resistance to Diseases. – Krasnodar, 2010. – P. 111-114.
89. Dominguez, J. Use of sunflower cultivars with resistance to imidazolinone herbicides to control broomrape (*Orobanche cumana*) infection / J. Dominguez, J. Alvarado, J.L. Espinosa [*et al.*] // Proc. 16th International Sunflower Conference. – 2004. – Vol. 1. – P.181-186.
90. Donald, C.M. The breeding of crop ideotypes / C.M. Donald // *Euphytica*. – 1968. – Vol. 17, № 3. – P. 385-403.
91. Enns, H. Fertility restorer / H. Enns // Proc. 5th Inter. Sunflower Conf. – Australia, Toowoomba; France, Clermont-Ferrand: Inter. Sunflower Assoc., 1972. – P. 213-215.
92. Fick, G.N. Breeding and Genetics / G.N. Fick // *Sunflower Science and Technology. Agron. Monogr.* – Madison: ASA. CSSA. SSA., 1978. – P. 279-338.
93. Fick, G.N. Sunflower Breeding / G.N. Fick, J.F. Miller // *Sunflower Technology and Production*. – Madison: ACA. CSSA. SSSA., 1997. – Chapter 8. – P. 395-441.
94. Geier, P. W. Common sunflower (*Helianthus annuus L.*) interference in soybean (*Glycine max*) / P.W. Geier, L.D. Maddux, L.J. Moshier *et al.* // *Weed Technology*. – 1996. – № 10. – P. 317-321.

95. Habura, E.Ch. Heterosis in Ertragsmerkmalen bei der Sonnenblume / E.Ch. Habura // TAG Theoretical and Applied Genetics. – 1958. – Vol. 28(6). – P. 285-287.
96. Heap, I. International survey of herbicide resistant weeds / I. Heap // [Электронный ресурс]. – 2003. – Режим доступа: [http://www.weedscience.org/research-workshop/158 pdf](http://www.weedscience.org/research-workshop/158_pdf) (дата обращения: 15.02.2004)
97. Kaya, Y. Sunflower (*Helianthus annuus L.*) breeding in Turkey for broomrape (*Orobancha cernua Loeffl.*) and herbicide resistance / Y. Kaya, M. Demirci, G. Evci // Helia. – 2004. – Vol. 27. – P. 199-210.
98. Kinman, M.L. New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs / M.L. Kinman // Proc 4th Inter. Sunflower. Conf. – USA, Memphis; France, Paris: Inter. Sunflower Assoc., 1970. – P. 181-183.
99. Kleifeld, Y. Selective control of *Orobancha* spp. with imazamethapyr / Y. Kleifeld, Y. Goldwasser, D. Plakhine [et al.] // Proc. of the 4th Int. Workshop. – Bulgaria: Albena (23-26 september, 1998). – P. 359-365.
100. Kolkman, J.V. Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower / J.V. Kolkman, M.B. Slabaugh, J.M. Bruniard // Theor. Appl. Genet. – 2004. – Vol. 109. – P. 1147-1159.
101. Kovačik, A. Results of inheritance evaluation of agronomically important traits in sunflower / A. Kovačik, V. Škaloud // Helia. – 1990. – Vol. 13. – P. 41-46.
102. Leclercq, P. Une sterilité mâle cytoplasmique chez le tournesol / P. Leclercq // Ann. Amélior. Plantes. – 1969. – Vol. 19(2). – P. 99-106.
103. Malidža, G. Imidazolinone resistant sunflower (*Helianthus annuus L.*): Inheritance of resistance and response towards selected sulfonyl urea herbicides / G. Malidža, D. Škorić, S. Jocić // Proc. 15th Inter. Sunflower

- Conf. – France, Toulouse; Paris: Inter. Sunflower Assoc., 2000. – Vol. 2 – P. 42-47.
104. Malidža, G. The possibility of using wild sunflower's resistance to imidazolinones / G. Malidža, D. Škorić, S. Jocić // *Acta Herbologica*. – 2002. – Vol. 11(1-2). – P. 43-52.
105. Manivannan, N. Association between parent and progeny performance and their relevance in heterosis breeding of sunflower / N. Manivannan, V. Mualidharan, M. Ravinirakumar // *Proc. 16th Inter. Sunflower Conf.* – USA, Fargo; France, Paris: Inter. Sunflower Assoc., 2004. – Vol. 2 – P. 581-584.
106. Matusova, R. Changes in the sensitivity of parasite weed seeds to germination stimulants / R. Matusova, T. van Mourik, H.J. Bouwmeester // *Seed Science Research*. – 2004. – № 14. – P. 335-344.
107. Massinga, R.A. Gene flow from imidazolinone-resistant domesticated sunflower to wild relatives / R.A. Massinga, K. Al-Khatib, J.F. Miller [*et al.*] // *Weed Science*. – 2003. – Vol. 51. – P. 854-862.
108. Miller, J.F. Sunflower / J.F. Miller // *Principles of cultivar development*. – New York: Macmillan Publ. Co., 1987. – Vol. 2. – P. 626-668.
109. Miller, J.F. Development of herbicide resistant germplasm in sunflower / J.F. Miller, K. Al-Khatib // *Proc. 15th Inter. Sunflower Conf.* – France, Toulouse; Paris: Inter. Sunflower Assoc., 2000. – Vol. 2. – P. 419-423.
110. Miller, J.F. Relationships among traits of inbreds and hybrids of sunflower / J.F. Miller, G.N. Fick, W.W. Rooth // *Proc. 10th Inter. Sunflower Conf.* – Australia, Surfers Paradise: Inter. Sunflower Assoc., 1982. – P. 238-240.
111. Pistolesi, G. Stressing sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants as a method for speeding breeding techniques / G. Pistolesi, F. Cecconi, S. Baroncelli, M. Rocca // *Z. Pflanzenzüchtung*, 1986. – Vol. 96. – P. 90-93.

112. Putt, E.D. The value of hybrids and synthetics in sunflower seed production / E.D. Putt // *Can. J. Plant Sci.* – 1962. – Vol. 42. – P. 488-500.
113. Putt, E.D. Heterosis, combining ability, and predicted synthetics from a diallel cross in sunflower / E.D. Putt // *Can. J. of Plant Sci.* – 1966. – Vol. 46. – P. 59-67.
114. Sala, C. Development of CLHA-Plus: a novel herbicide tolerance trait in sunflower conferring superior imidazolinone tolerance and ease of breeding / C. Sala, M. Bulos, M. Echarte [*et al.*] // *Proc. 17th Int. Sunflower Conf.* – Spain: Cordoba (8-12 June, 2008). – Vol. 2 – P. 489-494.
115. Schneiter, A.A. Description of sunflower growth stages / A.A.Schneiter, J.F. Miller // *Crop Science.* – 1981. – № 20. – P. 901-903.
116. Škorić, D. Desired model of hybrid sunflower and the newly developed NS-hybrids / D. Škorić // *Helia.* – 1980. – Vol. 3. – P.19-24.
117. Škorić, D. Sunflower breeding / D. Škorić // *Uljarstvo.* – 1988. – Vol. 25(1). – P. 1-90.
118. Škorić, D. Achievements and future directions of sunflower breeding / D. Škorić // *Field Crops Research.* – 1992. – Vol. 30. – P. 231-270.
119. Škoric, D. Sunflower genetics and breeding: international monograph / D. Škorić, G.J. Seiler, Z. Liu, C.C. Jan, J.F. Miller, L.D. Charlet. – Novi Sad: Serbian Academy of Sciences and Arts. Branch., 2012. – 520 p.
120. Tranel, P.J. Resistance of weeds to AHAS-inhibiting herbicides: what have we learned? / P.J. Tranel, T.R. Wright // *Weed Science.* – 2002. – Vol. 50. – P. 700-712.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1



Материнская фертильная линия ВК1-ими
(фаза цветения, поле 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 2



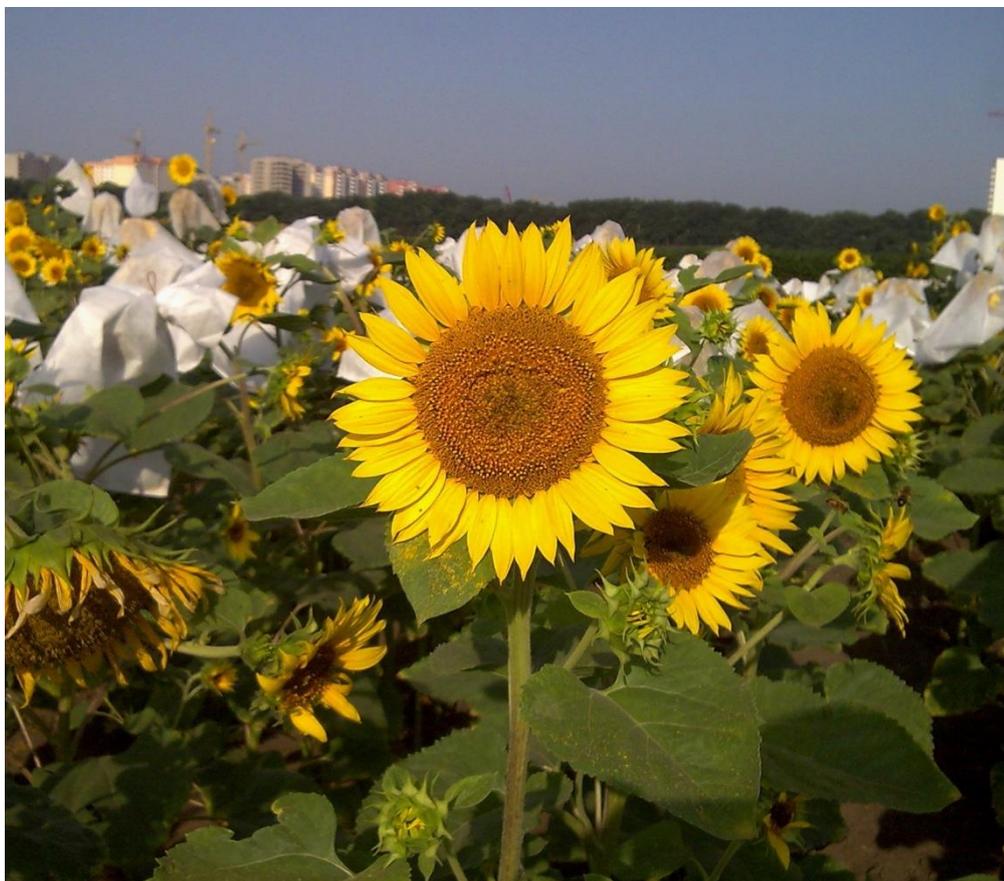
Материнская фертильная линия ВК1-ими
(фаза уборочной спелости, поле 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 3



Материнская фертильная линия ВК1-ими
(семянки)

ПРИЛОЖЕНИЕ 4



Линия-восстановитель фертильности ВК21-ими
(фаза цветения, поле 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 5



Линия-восстановитель фертильности ВК21-ими
(фаза уборочной спелости, лето 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 6



Линия-восстановитель фертильности ВК21-ими
(семянки)

ПРИЛОЖЕНИЕ 7



Гибрид подсолнечника Арими
(фаза цветения, поле 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 8



Гибрид подсолнечника Арими
(фаза уборочной спелости, поле 2011 г.)

ПРИЛОЖЕНИЕ 9



Гибрид подсолнечника Арми
(семянки)

ПРИЛОЖЕНИЕ 10

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ
Государственная комиссия Российской Федерации
по испытанию и охране селекционных достижений

ПАТЕНТ
НА СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ

№ 4529

Подсолнечник
Helianthus annuus L.

ВА 325

Патентообладатель

ГНУ АРМАВИРСКАЯ ОПЫТНАЯ СТАНЦИЯ ВНИИМК

Авторы -

ДЕРЕВЕНЕЦ ВИКТОР НИКОЛАЕВИЧ
ДУДКА НИКОЛАЙ ЗАХАРОВИЧ
ЗАЙЦЕВ НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ
МАМОНОВ ИВАН ФЕДОРОВИЧ
МАМОНОВА РАИСА НИКОЛАЕВНА
ФРОЛОВ СЕРГЕЙ СЕРГЕЕВИЧ
ФРОЛОВА ИРИНА НИКОЛАЕВНА



ВЫДАН ПО ЗАЯВКЕ № 9253489 С ДАТОЙ ПРИОРИТЕТА 05.12.2007 г.

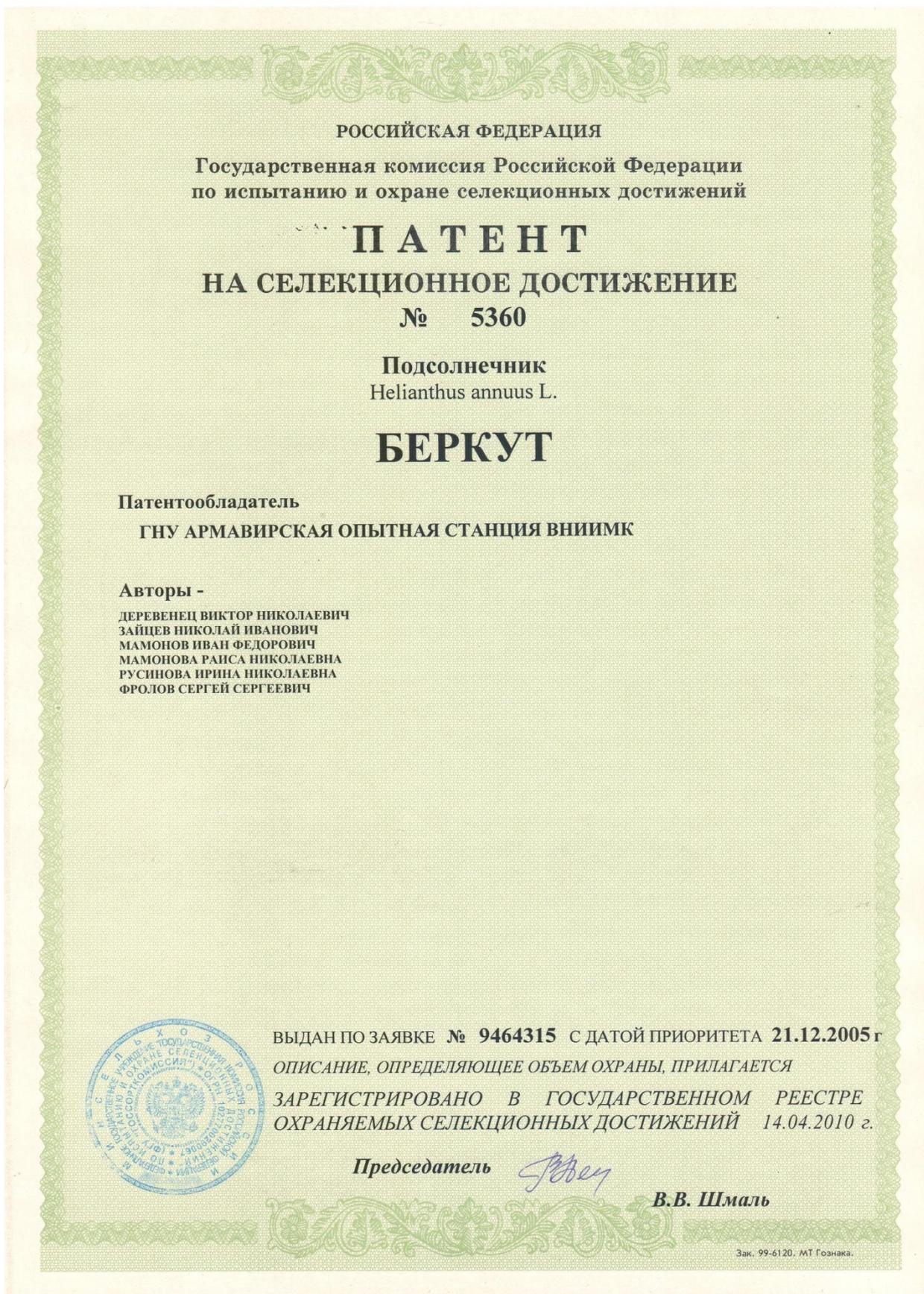
ОПИСАНИЕ, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕЕ ОБЪЕМ ОХРАНЫ, ПРИЛАГАЕТСЯ

ЗАРЕГИСТРИРОВАНО В ГОСУДАРСТВЕННОМ РЕЕСТРЕ
ОХРАНЯЕМЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ 20.02.2009 г.

Председатель

В.В. Шмаль

ПРИЛОЖЕНИЕ 11



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

Государственная комиссия Российской Федерации
по испытанию и охране селекционных достижений

ПАТЕНТ
НА СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ

№ 5360

Подсолнечник
Helianthus annuus L.

БЕРКУТ

Патентообладатель

ГНУ АРМАВИРСКАЯ ОПЫТНАЯ СТАНЦИЯ ВНИИМК

Авторы -

ДЕРЕВЕНЕЦ ВИКТОР НИКОЛАЕВИЧ
ЗАЙЦЕВ НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ
МАМОНОВ ИВАН ФЕДОРОВИЧ
МАМОНОВА РАНСА НИКОЛАЕВНА
РУСИНОВА ИРИНА НИКОЛАЕВНА
ФРОЛОВ СЕРГЕЙ СЕРГЕЕВИЧ



ВЫДАН ПО ЗАЯВКЕ № 9464315 С ДАТОЙ ПРИОРИТЕТА 21.12.2005 г
ОПИСАНИЕ, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕЕ ОБЪЕМ ОХРАНЫ, ПРИЛАГАЕТСЯ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО В ГОСУДАРСТВЕННОМ РЕЕСТРЕ
ОХРАНЯЕМЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ 14.04.2010 г.

Председатель

В.В. Шмаль

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственная комиссия Российской Федерации
по испытанию и охране селекционных достижений»

ПАТЕНТ
НА СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ
№ 7503

Подсолнечник
Helianthus annuus L.

ВК 21 ИМИ

Патентообладатель
ГНУ ВНИИ МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР ИМ. В.С.ПУСТОВОЙТА
РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ

Авторы -
БОРИСЕНКО ОКСАНА МИХАЙЛОВНА
ДЕМУРИН ЯКОВ НИКОЛАЕВИЧ
ЗАЙЦЕВ НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ
ПИХТЯРЕВА АНАСТАСИЯ АЛЕКСАНДРОВНА
ФРОЛОВ СЕРГЕЙ СЕРГЕЕВИЧ



ВЫДАН ПО ЗАЯВКЕ № 8853881 С ДАТОЙ ПРИОРИТЕТА 28.11.2011 г.
ОПИСАНИЕ, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕЕ ОБЪЕМ ОХРАНЫ, ПРИЛАГАЕТСЯ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО В ГОСУДАРСТВЕННОМ РЕЕСТРЕ
ОХРАНЯЕМЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ 03.09.2014 г.

Председатель

В.С. Волощенко

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственная комиссия Российской Федерации
по испытанию и охране селекционных достижений»

ПАТЕНТ
НА СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ

№ 7391

Подсолнечник
Helianthus annuus L.

АРИМИ

Патентообладатель
ГНУ ВНИИ МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР ИМ. В.С.ПУСТОВОЙТА
РОССЕЛЬХОЗАКАДЕМИИ

Авторы -

БОРИСЕНКО ОКСАНА МИХАЙЛОВНА
ДЕМУРИН ЯКОВ НИКОЛАЕВИЧ
ЗАЙЦЕВ НИКОЛАЙ ИВАНОВИЧ
ЛУКОМЕЦ ВЯЧЕСЛАВ МИХАЙЛОВИЧ
ПНКАЛОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСЕЕВНА
ПНХТЯРЕВА АНАСТАСИЯ АЛЕКСАНДРОВНА
ТРЕМБАК ЕВГЕНИЙ НИКОЛАЕВИЧ
ФРОЛОВ СЕРГЕЙ СЕРГЕЕВИЧ



ВЫДАН ПО ЗАЯВКЕ № 8853879 С ДАТОЙ ПРИОРИТЕТА 28.11.2011 г.
ОПИСАНИЕ, ОПРЕДЕЛЯЮЩЕЕ ОБЪЕМ ОХРАНЫ, ПРИЛАГАЕТСЯ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО В ГОСУДАРСТВЕННОМ РЕЕСТРЕ
ОХРАНЯЕМЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ 29.05.2014 г.

Председатель

В.С. Волощенко

ПРИЛОЖЕНИЕ 14



BASF SE, 67114 Limburgerhof, Germany

CONFIDENTIAL

VNIIMK
All-Russia Research Institute of Oil Crops
Filatova 17
350038 Krasnodar
Russia

4 December 2014
Matthias Pfenning
E-APE/MT 555
Tel. +49 621 6027913
Fax +49 621 606627913
matthias.pfenning@basf.com

Page 1 of 1

ARIMI CL – Clearfield® Temporary Qualification

Clearfield sunflower hybrids must be qualified by BASF prior to commercialization. This letter communicates BASF's decision to support the use of the Clearfield trademark with the VNIIMK hybrid ARIMI in the region mentioned below. If VNIIMK decides to market this hybrid outside this region, data from additional qualification trials conducted in the region(s) where it will be marketed will need to be provided.

The BASF Clearfield sunflower hybrid qualification system (CL document SF-24) requires that for qualification of a sunflower hybrid, at least 6 location years of tolerance data be generated. CL Protocol SF-60 must be used to generate this data. In the case of ARIMI, BASF generated data over 1 season on 1 location to allow for a qualification decision.

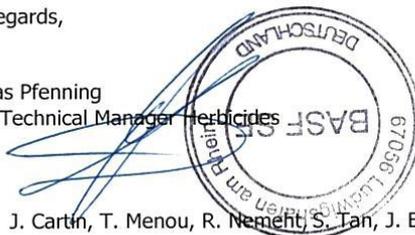
Based on the available data, the VNIIMK hybrid ARIMI temporarily qualifies for use of the Clearfield trademark in **RUSSIA**. Tolerance of ARIMI to 100 g of Imazamox (PULSAR®40) was not significantly different from the relevant standard (NK NEOMA) at all sites.

Based on the available data, BASF agrees to temporarily approve ARIMI for use with the Clearfield trademark in the country mentioned above for the 2015 growing season.

Congratulations and best of luck with this Clearfield hybrid.

Best Regards,

Matthias Pfenning
Senior Technical Manager - Herbicides



Thierry Menou
Key Account Manager Seeds

cc: J. Cartin, T. Menou, R. Nemeht, S. Tan, J. Brun, V. Bissarov, D. Peach

BASF SE
Agricultural Center Limburgerhof
67117 Limburgerhof, Germany

Phone: +49 621 60-0
Fax: +49 621 60-42525
E-mail: global.info@basf.com
Internet: www.basf.com
www.agro.basf.com

Registered Office: 67056 Ludwigshafen
Registration Court: Amtsgericht Ludwigshafen,
Registration No.: HRB 6000

Euro Bank details:
Commerzbank Aktiengesellschaft
Account No. 0201000700, Sort code 545 400 33
IBAN DE26 5454 0033 0201 0007 00
SWIFT COBADEFF545

Chairman of the Supervisory Board:
Eggert Voscherau

Board of Executive Directors:
Kurt Bock, Chairman;
Martin Brudermueller, Vice Chairman;
Hans-Ulrich Engel, Michael Heinz,
Andreas Kreimeyer, Stefan Marcinowski,
Harald Schwager, Margret Suckale

M:\E-APE_TPfenning\Breeders\VNIIMK\QualificationLetter\2014.12.04_TQL_VNIIMK_ARIMI.docx