

Оригинальные статьи / Original articles

https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-28-31
УДК 635.127:631.527.8:631.95

Егорова К.В., Синявина Н.Г.,
Кочетов А.А., Чесноков Ю.В.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Агрофизический научно-исследовательский институт» (ФГБНУ АФИ)
195220, Россия, г. Санкт-Петербург,
Гражданский пр., д. 14
E-mail: ksenia.v.egorova@gmail.com, sinad@inbox.ru

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Егорова К.В., Синявина Н.Г., Кочетов А.А., Чесноков Ю.В. Оценка селекционно значимых морфологических признаков в популяции удвоенных гаплоидов *Brassica rapa* L. в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы. *Овощи России*. 2020;(4):28-31. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-28-31>

Поступила в редакцию: 06.07.2020
Принята к печати: 25.07.2020
Опубликована: 25.08.2020

Ksenia V. Egorova,
Nadezhda G. Sinyavina,
Alexey A. Kochetov,
Yuriy V. Chesnokov

Agrophysical Research Institute
Agrophysical Research Institute
14, Grazhdanskiy prosp.,
St. Petersburg, 195220 Russia
E-mail: ksenia.v.egorova@gmail.com,
sinad@inbox.ru

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Egorova K.V., Sinyavina N.G., Kochetov A.A., Chesnokov Yu.V. Assessment of significant for breeding morphological traits in the double haploid population of *Brassica rapa* L. in controlled conditions of a regulated agroecosystem. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(4):28-31. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-28-31>

Received: 06.07.2020
Accepted for publication: 25.07.2020
Accepted: 25.08.2020

Оценка селекционно значимых морфологических признаков в популяции удвоенных гаплоидов *Brassica rapa* L. в контролируемых условиях регулируемой агроэкосистемы



РЕЗЮМЕ

Актуальность. К роду *Brassica* (семейство Капустные) относятся важнейшие овощные, масличные, пряные и кормовые сельскохозяйственные культуры. Многие предшественники капустных широко используются в качестве модельных объектов для изучения хозяйственно ценных признаков. Ограниченность публикаций, посвященных изучению генетических аспектов реализации морфологических количественных признаков *Brassica rapa* и отсутствие данных о влиянии параметров среды на их реализацию делают весьма актуальной задачей исследование этих признаков в регулируемых условиях агроэкосистемы (РАЭС).

Материал и методика. Особенность нашего исследования – изучение линий картирующих популяций *B. rapa* в строго контролируемых условиях РАЭС. Целью настоящей работы является изучение в РАЭС влияния световых факторов среды на проявление хозяйственно ценных признаков в картирующих популяциях *B. rapa*. Исследуемые популяции выращивали в оптимальных условиях при 12-часовом фотопериоде. В работе были использованы 21 линия DH 30 и 31 линия DH 38. Проведено изучение нескольких типов хозяйственно ценных признаков: сроки перехода к цветению, темпы роста растения, габитус и морфологические признаки листа и листовой розетки.

Результаты. Выявлена высокая степень вариации в проявлении изучаемых признаков между линиями внутри популяции, что согласуется с ранее опубликованными данными [1, 2]. Отобраны высокопродуктивные генотипы, которые могут быть использованы в дальнейшей генетико-селекционной работе, в том числе для получения генотипов, линий, и сортов, адаптированных для выращивания в светокультуре. Полученные данные также могут быть использованы для дальнейшего изучения влияния физических факторов среды на проявление селекционно значимых количественных признаков у капустных.

Ключевые слова: *Brassica rapa* L., популяция удвоенных гаплоидов, морфологические признаки, регулируемые условия.

Assessment of significant for breeding morphological traits in the double haploid population of *Brassica rapa* L. in controlled conditions of a regulated agroecosystem

ABSTRACT

Relevance. The genus *Brassica* includes the most important vegetable, oilseed, spice and forage crops. Many representatives of cabbage are widely used as model objects for studying economically valuable traits. Limited publications devoted to the study of genetic aspects of the implementation of morphological quantitative features of *B. rapa* and the lack of data on the influence of environmental parameters on their implementation make it a very urgent task to study these features in the RAES.

Material and methods. The purpose of this work is to study the influence of environmental light factors on the manifestation of economically valuable features in the mapping populations of *B. rapa* in the RAES. The peculiarity of our research is the study of lines of mapping populations of *B. rapa* in strictly controlled conditions of the RAES. The studied populations were grown under optimal conditions with a 12-hour photoperiod. 21 DH 30 lines and 31 DH 38 lines were used. Several types of economically valuable traits were studied: the timing of transition to flowering, the growth rate of the plant, the habit and morphological characteristics of the leaf and leaf rosette.

Results. A high degree of variation in the expression of the studied traits between lines within the population was revealed, which is consistent with previously published data [1, 2]. Highly productive genotypes, which can be used in further genetic selection work, including for obtaining genotypes, lines, and varieties adapted for growing in light culture, have been selected. The obtained data can also be used for further study of the influence of physical environmental factors on the manifestation of selectively significant quantitative traits in cabbage plants.

Keywords: *Brassica rapa* L., population of doubled haploids, morphological traits, regulated conditions.

Введение

Род *Brassica* (Капустные) успешно и широко используется для генетических и молекулярных исследований. К капустным относятся большое количество овощных, масличных, пряных и кормовых сельскохозяйственных культур [1], что делает многих представителей этого рода удачными модельными объектами. В состав *B. rapa* входят экономически значимые культуры разнообразных морфотипов и различного направления использования [2]. Почти все работы по изучению морфологических признаков у *B. rapa* осуществлялись в основном в полевых условиях, которые не позволяли четко моделировать действие физических факторов. Такие работы проводились и в различных эколого-географических зонах на территории РФ [1, 2, 3].

Для изучения количественных признаков капустных наиболее перспективно использовать картирующие популяции, представляющие собой набор генетически фиксированных информативных рекомбинантных линий, удвоенных гаплоидов (double haploid, DH), все локусы которых находятся в гомозиготном состоянии [4]. Технология получения удвоенных гаплоидов применяется как один из способов генетического улучшения сельскохозяйственных растений. Удвоенные гаплоиды являются так называемыми “бессмертными”, то есть генетически не изменяются, поэтому требуют только однократного генотипирования [1]. Использование линий удвоенных гаплоидов имеет ряд преимуществ перед традиционной схемой селекции: сокращение временных и трудовых затрат в несколько раз [5, 6], стабильность полученных линий, их однородность по фенотипу и генотипу (все гены удвоенных гаплоидов, в том числе и рецессивные, находятся в гомозиготном состоянии и проявляются, что необходимо для стабильного закрепления комплекса полезных признаков на генетическом уровне), отсутствие летальных форм, так как такие растения погибают на стадии создания, и, наконец, возможность получить большое количество высокопродуктивных и генетически стабильных линий, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам. Популяции линий DH идеально подходят для генетического анализа количественных признаков благодаря своей генетической однородности [4].

Отдельные генотипы могут быть воспроизведены в разных условиях среды для предоставления фенотипических данных, которые позволяют разделить фенотипические изменения на экологические и генетические эффекты [2, 3]. Результативность

и эффективность использования технологии DH в селекции овощных капустных теоретически может быть улучшена путем сочетания ее с маркер-вспомогательной селекцией (Marker Assisted Selection, MAS).

Особенностью нашего исследования является изучение линий картирующих популяций *B. rapa* в условиях РАЭС при заданных параметрах окружающей среды (длина светового дня, освещенность, температура, условия в корнеобитаемой среде). Результатом изучения генотипов в РАЭС служит четкое выявление реакции генотипа на действие определенных факторов среды и ее оценка, которая позволяет целенаправленно исследовать влияние конкретных параметров окружающей среды на реализацию селектируемых признаков. Особенно это важно для количественных признаков, которые в большой мере зависят от взаимодействия генотип-среда. В РАЭС также имеется возможность оценки вклада генотипа и окружающей среды в реализацию селектируемых признаков [7]. До сих не было проведено ни одного исследования по выявлению и локализации на группах сцепления генетических детерминант, определяющих проявление хозяйственно ценных количественных признаков *B. rapa* в условиях РАЭС.

Материалы и методы

Выращивание растений в условиях регулируемой агроэкосистемы

Изучение селекционно значимых морфологических признаков проводилось в строго контролируемых условиях светокультуры на биополигоне ФГБНУ АФИ.

Пророщенные семена высаживали в горшочки для рассады 10x9x9 см, заполненные субстратом на основе верхового торфа с минеральными добавками, pH субстрата 6,0-6,2. Размер выборки – 4-5 растений для каждой линии. Растения выращивали в оригинальной вегетационной светустановке, оборудованной в качестве источника света лампами ДНаТ-400 (производитель ООО «Рефлекс»). Освещенность растений в опытах составляла 15-20 клк, продолжительность светового периода – 12 часов в сутки. Полив осуществляли водой, подкормку – раствором Кнопа три-четыре раза в неделю. Температуру поддерживали на уровне 23±3°C в течение суток (днем и ночью). Внешний вид растений на разных стадиях развития показан на рисунке 1.



Рис. 1. Растения DH линий *B. rapa* на разных стадиях развития: 1 – горшочки с высаженными семенами; 2 – всходы; 3 – середина вегетационного периода; 4 – цветение
Fig. 1. DH line plants *B. rapa* at different stages of development: 1 – pots with planted seeds; 2 – seedlings; 3 – mid-vegetation period; 4 – flowering

Картирующие популяции *B. rapa* DH 30 и DH 38

Популяция DH38 получена от скрещивания листовой/черешковой китайской капусты (PC-175, сорт Nai Bai Cai, k-VO2BO226) и масличного желтого сарсона (YS-143, k-FIL500), **популяция DH30** – в результате гибридизации японской корнеплодной репы (VT-115, сорт Kairyuu Hakata, k-CGN15199) и масличного желтого сарсона (YS-143, k-FIL500) [1]. Исходные образцы относятся к разным ботаническим под-видам, имеют различные продуктивные органы и значительно различаются генетически [8]. Популяции созданы в лаборатории селекции растений Университета Вагенингена, Нидерланды (WUR – Wageningen University and Research Centre) при использовании культуры микроспор. Потомство дигаплоидных растений от единственного растения F₁ в каждой комбинации скрещивания было использовано для генотипирования и фенотипирования. Семена DH линий *B. rapa* L. DH 30 и DH38 были любезно предоставлены Артемьевой А.М.

Учет морфологических признаков

Растения выращивали до начала перехода к цветению. При уборке растений оценивали следующие параметры (табл. 1).

Проводили описание 4-5 растений каждой линии, затем вычисляли усредненные характеристики. Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программного обеспечения Excel 2010.

Полученные результаты и их обсуждение

В работе была использована 21 линия DH 30 и 31 линия DH 38. По результатам работы было выявлено значительное варьирование морфологических признаков в условиях светокультуры (РАЭС). Значения селекционно значимых количественных признаков указаны в таблице 2. Имеются ранее опубликованные данные о также значительных различиях в проявлении морфологических признаков между изучаемыми линиями, зависящих от места и года испытаний, которые согласуются с данными, полученными нами в условиях светокультуры [1,2].

Варьирование проявления некоторых признаков между образцами в пределах одной линии могло быть очень велико: например, коэффициент варьирования по признаку масса растения достигает значения более 80%, а по признакам высота растения и диаметр растения – более 30%. Такой высокий



Рис. 2. Примеры типов листа в популяциях DH линий *B. rapa*: 1 – лировидный; 2 – цельно-сидячий; 3 – цельно-черешковый

Fig.2. Examples of leaf types in DH lines populations *B. rapa*: 1 – lyre; 2 – entire sitting; 3 – entire with petiole

коэффициент вариации может объясняться как изначальным различием качества семенного материала, так и “эффектом положения” при выращивании в светокультуре или другими случайными факторами.

Оцениваемые морфологические параметры листа в изучаемых DH популяциях имели значительные различия: по типу листа выделялись растения с цельно-сидячими, цельно-черешковыми, неясно-лировидными и лировидными листьями (рис. 2); встречались различные формы листовой пластинки – яйцевидная, обратно-яйцевидная, удлинненно-овальная, удлинненно-эллиптическая, овальная, усечено-овальная, эллиптическая, усечено-эллиптическая, округлая; поверхность пластинки варьировала от плоской до сильно выпуклой, поверхность ткани – от гладкой до морщинистой и пузырчатой различной степени; опушение – от полного отсутствия до средней степени опушенности, окраска – от матовой светлозеленой до блестящей темно-зеленой.

Полученные данные могут использоваться для дальнейшего изучения механизмов взаимодействия генотип-среда на про-

Таблица 1. Перечень проанализированных признаков линий *Brassica rapa* L. (по Артемьевой А.М. и др. [1])
Table 1. List of leafy *Brassica rapa* L analyzed traits (by Artemyeva A.M et al. [1])

Тип признаков	Название признака	Описание признака	Шкала
Время перехода к цветению	Время перехода к цветению	Число дней от всходов до появления первого раскрытого цветка	сутки
	Признаки роста растения	Диаметр	Диаметр листовой розетки
Высота		Высота растения от уровня субстрата до верха розетки	см
Масса растения		Масса надземной части на момент уборки	гр
Признаки листа	Тип листа	Цельно-сидячий – 1, неясно-лировидный – 3, лировидный – 5, цельный с черешком – 7	1-7
	Длина черешка	Длина от основания черешка до основания пластинки	см
	Ширина черешка	Ширина основания черешка	см
	Окраска черешка	Белая – 1, светло-зеленая – 5, зеленая – 9	1-9
	Длина пластинки	Длина от основания до вершины пластинки	см
	Ширина пластинки	Ширина в самой широкой части пластинки	см
	Форма пластинки	Яйцевидная – 1, обратно-яйцевидная – 2, удлинненно-овальная – 3, удлинненно-эллиптическая – 4, овальная – 5, усечено-овальная – 6, эллиптическая – 7, усечено-эллиптическая – 8, округлая – 9	1-9
	Характер поверхности пластинки	Плоская – 1, слабо вогнутая – 3, сильно вогнутая – 5, слабо выпуклая – 7, выпуклая – 8, сильно выпуклая – 9	1-9
	Характер поверхности ткани пластинки	Гладкая – 1, очень слабо морщинистая – 2, слабо морщинистая – 3, средне морщинистая – 4, сильно-морщинистая – 5, складчато-морщинистая – 6, мелко-пузырчатая – 7, средне-пузырчатая – 8, сильно-пузырчатая – 9	1-9
	Окраска пластинки	Светло-зеленая – 1, светло-серо-зеленая – 2, ярко-светло-зеленая – 3, серо-зеленая – 4, зеленая – 5, ярко-зеленая – 6, темно-зеленая – 7, ярко-темно-зеленая – 8, темно-серо-зеленая – 9	1-9
Опушение пластинки	Отсутствует – 1, очень слабое по краю – 3, слабое – 5, среднее – 7, сильное – 9	1-9	

Таблица 2. Оценка количественных морфологических признаков ДН линий *Brassica rapa* L в условиях 12-часового светового периода
Table 2 Assessment of quantitative morphological traits of DH lines of *Brassica rapa* L in light culture conditions

Изучаемый признак ¹	ДН 30			ДН38		
	Среднее значение	Пределы значения признака	Вариация (%)	Среднее значение	Пределы значения признака	Вариация (%)
Дни до начала стеблевания	47	31-54	15,6	45	31-53	15,2
Диаметр растения	31,6	15,4-43,4	22,5	27,2	19,2-35,0	15,1
Высота растения	22,7	14,2-34,2	24,2	17,4	12,5-26,8	19,0
Масса растений	82,1	9,8-153,3	48,2	67,1	24,3-220,0	63,8
Длина листовой пластинки	14,3	9-25	25,9	12,3	8,5-22,0	25,6
Ширина листовой пластинки	8,9	6-12	15,1	9,7	7,5-14,0	15,1
Длина черешка	6,6	0-14,2	67,0	4,3	0-10,5	85,9
Ширина черешка	0,9	0-1,5	42,7	0,9	0-1,6	35,1

¹ Единицы измерения изучаемых признаков указаны в таблице 1.

явление хозяйственно ценных количественных признаков у капустных культур.

В результате проведенной работы были выделены ценные по продуктивности и морфологическим характеристикам линии, которые могут быть использованы как источники комплекса важных селекционных признаков для выращивания в условиях светокультуры, таких, как значительная вегетативная масса растения (крупный размер листа), отсутствие опушения листьев, поздний переход к стеблеванию с сохранением товарных и вкусовых качеств продукции. Такими перспективными для практического использования в светокультуре в популяции ДН 30 были линии 134, 164 и 178, а в популяции ДН 38 – линии 15, 87 и 169.

Дальнейшая работа может быть направлена на локализацию генов, отвечающих за изучаемые количественные признаки (QTL-анализ, разработка MAS-маркеров), расширение исследуемых признаков (например, изучение биохимического состава), подбор оптимальных условий выращивания в светокультуре (световой режим, состав субстрата и питательного раствора), выявление генотипов, устойчивых к действию биотических и абиотических стрессоров, смоделированных в РАЭС.

Выводы

Изучение картирующих популяций *B. rapa* в РАЭС позволило более четко охарактеризовать имеющиеся линии по основным селекционно значимым признакам. Проведена оценка реализации в условиях 12-часового фотопериода таких признаков, как сроки перехода к цветению, темпы роста растения, морфологические признаки листа и листовой розетки для двух картирующих популяций *B. rapa*: ДН 30 и ДН 38. Выявлена высокая вариабельность в проявлении изучаемых признаков между линиями внутри популяции, выделены ценные по продуктивности и морфологическим характеристикам линии, которые могут быть использованы как источники комплекса важных гентико-селекционных признаков для выращивания в условиях светокультуры, а также для селекции генотипов. линий и сортов, адаптированных для выращивания при коротком дне (южные регионы и осенне-зимний период вегетации). Полученные результаты вносят вклад в изучение влияния факторов окружающей среды на реализацию хозяйственно ценных признаков и могут быть использованы в дальнейшей селекционной работе с капустными растениями.

Об авторах:

Егорова Ксения Вадимовна – аспирант, <https://orcid.org/0000-0001-7853-1301>

Синявина Надежда Георгиевна – кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, <https://orcid.org/0000-0003-0378-7331>

Кочетов Алексей Александрович – кандидат биол. наук, ведущий научный сотрудник, <https://orcid.org/0000-0001-7221-9886>

Чесноков Юрий Валентинович – доктор биол. наук, директор ФГБНУ АФИ, <https://orcid.org/0000-0002-1134-0292>

About the authors:

Ksenia V. Egorova – Postgraduate student, <https://orcid.org/0000-0001-7853-1301>

Nadezhda G. Sinyavina – Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher, <https://orcid.org/0000-0003-0378-7331>

Alexey A. Kochetov – Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, <https://orcid.org/0000-0001-7221-9886>

Yuriy V. Chesnokov – Doc. Sci. (Biology), Director of Agrophysical Research Institute, <https://orcid.org/0000-0002-1134-0292>

Литература

- Артемьева А.М., Соловьева А.Е., Кочерина Н.В. и др. ДНК маркированные линии двойных гаплоидов *Brassica rapa* L. и идентифицированные QTL, контролирующие хозяйственно ценные признаки для использования в селекции листовых капустных культур. *Каталог мировой коллекции ВИР*. 2012;(810):174
- Артемьева А.М., Соловьева А.Е., Кочерина Н.В. и др. Картирование хромосомных локусов, определяющих проявление морфологических и биохимических признаков качества у культур вида *Brassica rapa* L. *Физиология растений*. 2016;63(2):275-289. <https://doi.org/10.7868/S0015330316020044>
- Артемьева А.М., Руднева Е.Н., Кочерина Н.В., Чесноков Ю.В. QTL анализ морфологических признаков качества у *Brassica rapa* L. *Овощи России*. 2014;(2):14-17. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2014-2-14-17>
- Pink D., Bailey L., McClement S. et al. Double haploids, markers and QTL analysis in vegetable brassicas. *Euphytica*. 2008; 164(2):509-514. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9742-1>
- da Silva Dias, João Carlos. Effect of incubation temperature regimes and culture medium on broccoli microspore culture embryogenesis. *Euphytica*. 2001;119(3):389-394.
- Шмыкова Н.А., Шумилина Д.В., Супрунова Т.В. Получение удвоенных гаплоидов у видов рода *Brassica* L. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(1):111-120. <https://doi.org/10.18699/VJ15.014>
- Кочетов А.А., Макарова Г.А., Мирская Г.В., Синявина Н.Г. Агрофизический подход к созданию новых форм культурных растений. *Агрофизика*. 2012;(1):40.
- Zhao J., Wang X., Deng B., et al. Genetic relationships within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. *Theoretical and applied genetics*. 2005;110(7):1301-1314. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-1967-y>

References

- Artemyeva A.M., Soloveva A.E., Kocherina N.V. et al. DNA marked *Brassica rapa* L. double haploid lines and identified QTLs that control economically valuable traits for use in breeding cabbage leaf crops. *Catalogue of the the VIR global collection*. 2012;(810):174
- Artemyeva A.M., Soloveva A.E., Kocherina N.V. et al. Mapping of chromosomal loci that determine the manifestation of morphological and biochemical quality traits in cultures of the species *Brassica rapa* L. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2016;63(2):275-289. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S0015330316020044>
- Artemyeva A.M., Rudneva E.N., Kocherina N.V., Chesnokov Y.V. QTL analysis of morphological traits of quality in *Brassica rapa* L. *Vegetable crops of Russia*. 2014;(2):14-17. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2014-2-14-17>
- Pink D., Bailey L., McClement S. et al. Double haploids, markers and QTL analysis in vegetable brassicas. *Euphytica*. 2008; 164(2):509-514. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9742-1>
- da Silva Dias, João Carlos. Effect of incubation temperature regimes and culture medium on broccoli microspore culture embryogenesis. *Euphytica*. 2001;119(3):389-394.
- Shmykova N.A., Shumilina D.V., Suprunova T.P. Doubled haploid production in *Brassica* L. seeds. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(1):111-120. <https://doi.org/10.18699/VJ15.014>
- Kochetov A.A., Makarova G.A., Mirskaya G.V., Sinyavina N.G. The agrophysical approach to the creation of new forms of cultural plants. *Agrophysics*. 2012;(1):40.
- Zhao J., Wang X., Deng B., et al. Genetic relationships within *Brassica rapa* as inferred from AFLP fingerprints. *Theoretical and applied genetics*. 2005;110(7):1301-1314. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-1967-y>