

Системы ЦМС у рапса и их использование в селекции отечественных гибридов

DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180



УДК 633.853.494:575.153

Поступление/Received: 24.05.2020

Принято/Accepted: 21.09.2020

И. Н. АНИСИМОВА, А. Г. ДУБОВСКАЯ*

Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44

✉ irina_anisimova@inbox.ru

* ✉ a.dubovskaya@vir.nw.ru

CMS systems in rapeseed and their use in the breeding of domestic hybrids

I. N. ANISIMOVA, A. G. DUBOVSKAYA *

N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia

✉ irina_anisimova@inbox.ru

* ✉ a.dubovskaya@vir.nw.ru

Создание гетерозисных гибридов является наиболее эффективным подходом к решению проблемы повышения продуктивности рапса (*Brassica napus* L.) – одной из ведущих масличных культур. При получении гибридных семян рапса широко используется цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), позволяющая проводить контролируемую гибридизацию материнских и отцовских линий. В статье приведен обзор данных литературы о природе систем ЦМС рапса и их использовании в селекции. У рапса известно более 10 систем ЦМС аллоплазматической и гомоплазматической природы. Доказана связь этого признака с химерными митохондриальными генами, характеризующимися наличием новых транскрибируемых открытых рамок считывания (*orf*). Идентифицированы гены митохондрий, ассоциированные с ЦМС *nap*, *pol*, *ogu*, *Nsa*, а также ядерные гены *Rf*, восстанавливающие фертильность пыльцы. Разработаны системы молекулярных маркеров для идентификации индуцирующих ЦМС и восстанавливающих мужскую фертильность генов. При получении промышленных гибридов рапса в мире преимущественно используются системы ЦМС *ogu*, *pol*, *MSL* и *inap*. В Госреестре РФ сортов растений на 2019 год представлены гибриды рапса только иностранной селекции. Рассмотрены основные достижения исследований в области гибридной селекции рапса в России. В научных и селекционных учреждениях создан новый исходный материал для гетерозисной селекции рапса в различных регионах страны. Источники стерильности и восстановления фертильности получены из учреждений Канады и Франции, а также выделены при скрининге рабочих коллекций. Установлено, что при переводе материнских линий гибридов на стерильную цитоплазму признаки структуры урожая не ухудшаются, но при переносе генов восстановления фертильности пыльцы в отцовские линии повышается содержание глюкозинолатов. Для ускорения селекционного процесса использованы дигаплоидные (андроклинные) линии, культура неоплодотворенных семязачатков *in vitro*. Получены экспериментальные гибриды с использованием ЦМС *pol* и *ogu*.

Ключевые слова: *Brassica napus*, *Ogura*, *Polima*, гены, *orf*, *Rf*, линии, гибриды, селекция, исходный материал.

Development of heterotic hybrids is the most efficient approach to solve the problem of increasing the yield of rapeseed (*Brassica napus* L.), a leading oilseed crop. The cytoplasmic male sterility (CMS), widely used in rapeseed hybrid seed production, makes it possible to control hybridization between female and male lines. A review of publications on the nature of CMS systems in rapeseed and their utilization in breeding is presented. In rapeseed there are more than 10 known CMS systems of alloplasmic and homoplasmic origin. The male sterility character proved to be determined by chimeric mitochondrial genes, characterized by the presence of novel transcribed open reading frames (*orf*). Mitochondrial CMS genes associated with *nap*, *pol*, *ogu* and *Nsa* sterility types as well as nuclear *Rf* genes for pollen fertility restoration were identified. Molecular marker systems for identification of CMS-inducing and male fertility restoring genes were developed. The *ogu*, *pol*, *MSL* and *inap* CMS systems are commonly used for producing industrial rapeseed hybrids. The State Register of the Russian Federation for 2019 contains rapeseed hybrids of only foreign origin. Main achievements in domestic rapeseed hybrid production are highlighted. Research and breeding institutions developed new source material for rapeseed heterotic hybrid breeding in various regions of the country. The sterility and fertility restoration sources were received from Canadian and French institutions as well as from domestic working collections. The yield structure traits did not deteriorate after transferring hybrid maternal lines to the sterile cytoplasm, while the glucosinolate content increased when pollen fertility restoring genes were transferred into paternal lines. Dihaploid (androclinium) lines and *in vitro* culture of unfertilized ovules were used to accelerate the breeding process. Experimental hybrids were developed using *pol* and *ogu* CMS.

Key words: *Brassica napus*, *Ogura*, *Polima*, genes, *orf*, *Rf*, lines, hybrids, breeding, source material.

Рапс (*Brassica napus* L., семейство Brassicaceae Burnett) – одна из ведущих масличных культур. Получаемое из семян этого растения масло – одно из наиболее потребляемых в мире растительных масел; по объему производства оно занимает пятое место после пальмового, соевого и арахисового и сравнимо с подсолнечным. Возделывание рапса возможно во всех зонах умеренным климатом. Жирнокислотный состав пищевого рапсового масла подобен оливковому, оно используется как салатное и кулинарное. Масло рапса востребовано как техническое сырье при производстве полимеров и для получения биотоплива. Рапс также используют как кормовое и медоносное растение.

Наиболее перспективным путем повышения продуктивности рапса является создание гетерозисных гибридов. Эффект гетерозиса у рапса отмечен многими авторами (например, Brandle, McVetty, 1990). В опытных посевах он может достигать у ярового рапса 20–30%, у озимого – 30–40%. В настоящее время селекционные фирмы предпочитают создавать именно гибриды, так как производители вынуждены для каждого года посева вновь приобретать оригинальные семена (Goncharov, Gorlova, 2018). Наиболее экономичный и эффективный путь получения гибридных семян – использование признака мужской стерильности, что позволяет проводить контролируемую гибридизацию материнских и отцовских форм.

Системы ЦМС рапса

Существуют разные способы индукции мужской стерильности, которые используются в селекции *Brassica* L. Помимо химического метода (применения гаметоцидов), возможно использовать генетически обусловленные системы: самонесовместимость (SI), ядерную мужскую стерильность (NMS, ЯМС), иначе называемую генной мужской стерильностью (GMS, ГМС), и цитоплазматическую мужскую стерильность (CMS, ЦМС).

Феномен ЦМС, выражающийся в неспособности растения продуцировать жизнеспособную пыльцу и обусловленный экспрессией абберантных (химерных) генов, возникающих в результате перестроек митохондриального генома, описан у различных видов растений (Hanson, Ventolila, 2004; Ivanov, Dymshits, 2007). ЦМС возникает в популяциях спонтанно (гомоплазматическая или аутоплазматическая ЦМС) либо при отдаленной (межвидовой, межродовой) половой или соматической гибридизации (аллоплазматическая ЦМС) (Li et al., 2019; Sang et al., 2019). Признак мужской стерильности супрессируют ядерные гены восстановления фертильности (*Rf*). За небольшими исключениями (например, кодирующий альдегиддегидрогеназу кукурузы ген *rf2*), большинство идентифицированных генов *Rf* кодирует PPR-белки, содержащие повторяющиеся вырожденные мотивы из 35 аминокислотных остатков (*Pentatricopeptide Repeat – PPR*). PPR-гены, продукты которых обладают функцией восстановления фертильности, выделены в отдельное подсемейство – *Restoration of Fertility Like (RFL)-PPR* (Fujii et al., 2011).

Всего у крестоцветных описано около 30 различных типов ЦМС, у рапса – более 10, среди которых гомоплазматические *nap*, *pol*, *ctr*, аллоплазматические *ogu*, *oxy*, *inap*, а также MSL. Системы гибридизации у овощных культур семейства Brassicaceae подробно рассмотрены в обзорах (Yamagishi, Bhat, 2014; Singh et al., 2019). Широкое использование различных типов ЦМС в селекции

ограничено нестабильностью проявления признака стерильности в зависимости условий среды, трудностями получения надежных источников генов восстановления фертильности, а в ряде случаев и негативными эффектами стерильной цитоплазмы на хозяйственно ценные признаки. Поэтому в практической селекции применение нашли лишь некоторые из них (табл. 1).

ЦМС *nap* (*napus*) впервые описана в потомстве гибридов F_2 от скрещивания ярового сорта польской селекции 'Bronowski' в роли опылителя с дигиплоидными и инбредными линиями из шведских сортов. Выделенная стерильная линия RD15 имела генотип (*S*) *rf1f* (Thompson, 1972). При этом типе стерильности образуется небольшое количество пыльцы в начале и в конце периода цветения. У стерильных растений изменяется морфология цветка: венчик не раскрывается полностью, полусомкнутый, лепестки махровые или складчатые, пыльники игольчатой формы, в нижней части пыльников может быть немного пыльцы. Восстановление фертильности у стерильной формы из сорта 'Bronowski' контролируется двумя доминантными генами *Rf*. Она характеризуется тесным сцеплением гена *Rf* с геном *G* (*glossy*) – блестящие (восковидные) листья (Rousselle, Renard, 1978). ЦМС *nap* широко распространена у рапса, но из-за нестабильности практического значения не имеет.

Тип стерильности *Polima* (ЦМС *pol*) был описан в Китае у одноименного польского сорта рапса в 1972 г. (Fu, 1981). Морфологические изменения цветущих растений подобны изменениям соцветий у ЦМС *nap*, но деформации лепестков не наблюдается, лепестки остаются гладкими. В специальных экспериментах были выявлены различия в проявлении признака стерильности у стерильных и частично стерильных линий на основе систем *nap* и *pol* в зависимости от температуры. Так, при температуре ниже 30°C линии с ЦМС *pol* оказались полностью стерильными, но образовывали некоторое количество пыльцы при более высокой температуре. В то же время ЦМС *nap* стабильно проявлялась лишь при низких температурах (Fan et al., 1986).

Оба типа стерильности характеризуются наличием в митохондриальном геноме новых открытых рамок считывания (*orf*), последовательности которых в значительной степени сходны. Митохондриальный ген *orf222*, обуславливающий ЦМС *nap*, ко-транскрибируется вместе с экзоном транс-сплайсируемого гена *nad5c* и короткой рамкой считывания *orf139* (Liu et al., 2017). Ассоциированный с ЦМС *pol*-типа район митохондриального генома *orf224/atp6* содержит химерный ген *orf224*, который ко-транскрибируется вместе с геном *atp6*, кодирующим субъединицы комплекса V АТФ синтазы (Singh, Brown, 1993). Гены *Rfn* и *Rfp*, супрессирующие проявление ЦМС *nap* и ЦМС *pol*, тесно сцеплены, но не идентичны (Liu et al., 2016). Они сходным образом влияют на процессинг транскриптов ЦМС-генов, индуцируя удаление последовательностей с 5'-концов. В опытах по гибридизации ген *Rfn* закреплял стерильность при ЦМС *pol*, а ген *Rfp* – при ЦМС *nap* (Jean et al., 1997). Показано, что *Rfn* относится к классу типичных *RFL-PPR*-генов, характеризуется высоким уровнем экспрессии в бутонах и преимущественно экспрессируется в тапетуме и мейоцитах (Gabegeau, Brown 2016; Liu et al., 2017).

Митохондриальный ген *orf224-1*, обуславливающий стерильность широко используемой в Китае ЦМС Shaan 2A, близок по нуклеотидной последовательно-

Таблица 1. Источники цитоплазматической стерильности у рапса

Table 1. Cytoplasmic male sterility sources in rapeseed

Название / Name	Источник стерильности / Sterility source	Селекционное значение / Breeding value	Ссылки / References
<i>nap</i> (<i>napus</i>)	Внутривидовая гибридизация: ♀ линии из шведских сортов × ♂ cv. Bronowski (линия RD 15)	Стерильность неполная, в селекции не используется	Thompson, 1972
<i>pol</i> (<i>Polima</i>)	Спонтанная внутривидовая стерильность (cv. Polima)	Стерильность чувствительна к высокой температуре, использование ограничено	Fu, 1981
<i>ogu</i> (<i>Ogura</i>)	Стерильность и восстановитель фертильности перенесены в рапс от неизвестного сорта редиса (<i>Raphanus sativus</i>)	Нежелательные признаки преодолены (хлороз, низкая завязываемость семян, высокое содержание глюкозинолатов), созданы промышленные гибриды	Heyn, 1976; Rousselle, Bregeon, 1982
<i>kos</i> (<i>Kosena</i>)	Аналогична <i>ogu</i> -CMS, перенесена в рапс из редиса (<i>Raphanus sativus</i>) cv. Kosena		Yamagishi, Terachi, 2001
<i>ogu</i> -NWSUAF	Линия выделена из <i>kos</i> -CMS		Zhao et al., 2010
<i>oxy</i>	Межвидовая гибридизация <i>Brassica oxyrrhina</i> × <i>B. campestris</i>	Хлороз; в селекции не используется	Prakash, Chopra, 1988
<i>ctr</i>	Внутривидовая стерильность устойчивых к тразину образцов из cv. Tower	В селекции не используется	Grant et al., 1986
<i>mur</i>	Отдаленная гибридизация: <i>Diplotaxis muralis</i> × <i>Brassica campestris</i> (cv. Yukina); <i>D. muralis</i> × <i>B. napus</i> (cv. Regent)	Низкая завязываемость семян у гибридов F ₁	Hinata, Konno, 1979; Fan et al., 1986
MSL	Сочетание цитоплазматической стерильности неизвестной природы и ядерной стерильности	Промышленные гибриды	Frauen, 1987
<i>Nsa</i>	Соматическая межвидовая гибридизация <i>Brassica napus</i> и <i>Sinapis arvensis</i>	Высокая стабильность стерильности, перспективная	Hu et al., 2002; Wei et al., 2010
<i>inap</i>	Соматическая межвидовая гибридизация <i>Brassica napus</i> и <i>Isatis indigotica</i>	Перспективная	Kang et al., 2017

сти к гену *orf224*, ассоциированному с ЦМС *pol*; оба гена различаются заменой одного нуклеотида в позиции 398 (Wang et al., 2002).

В зависимости от чувствительности признака мужской стерильности к температуре выделяют высоко-температурные, низкотемпературные и стабильные линии с ЦМС *pol*. Получены рекомбинанты с цитоплазмой *pol* и ядерными генами спорофитной самонесовместимости *SI* (Shen et al., 2008). Они были полностью стерильны при высоких температурах и завязывали небольшое количество семян при низких температурах, что обуславливает необходимость использования как двухлинейной, так и трехлинейной схем скрещивания (Yang et al., 1995).

Тип стерильности *Ogura* (*ogu*) впервые был описан у японского подвида редиса (*Raphanus sativus* L.) (Ogura, 1968). ЦМС *Ogura* характеризуется стабильностью проявления, уменьшением размера цветков и изменением формы лепестков. Цитоплазма *ogu* была перенесена в растения рода *Brassica*, сначала в капусту (*B. oleracea* L.), а затем в рапс (Heyn, 1976; Motegi et al., 2003). Был

использован метод соматической гибридизации с последующим отбором рекомбинантов с нормальными хлоропластами (Rousselle, Bregeon, 1982). Однако растения рапса с этой аллоплазматической ЦМС отличались низким содержанием хлорофилла (в 2 раза меньше, чем у фертильных форм) и недоразвитием нектарников. Результаты транскриптомного анализа показали, что хлороз растений с ЦМС *ogu* обусловлен снижением уровня экспрессии белков тилакоидов и белков, связанных с хлорофиллом (Jeong et al., 2017).

При гистологическом исследовании обнаружены нарушения гаметогенеза на более ранних стадиях, чем у *nap*- и *pol*-CMS. В растениях с мужской стерильностью андроцей почти полностью атрофирован и заполнен недифференцированными клетками, в мужском мейозе присутствовали мультиваленты (Bartkowiak-Broda et al., 1979). Также было показано, что в онтогенезе признака стерильности у форм с ЦМС *ogu* при одних и тех же генах восстановления фертильности наблюдают эмбриологические различия в постмейотический период – это может быть либо гипертрофия клеток та-

петума, либо нарушение целостности микроспор с последующим лизисом их оболочек (Gourgret et al., 1992; Lisnyak et al., 2011).

Последовательности митохондриального генома форм с ЦМС *ogu*-типа, в том числе митохондриального гена *orf138* – уникальны и, по-видимому, возникли в результате множественных перестроек последовательностей генома дикого типа (Tanaka et al., 2012). Идентифицировано 9 вариантов митохондриального гена *orf138*, обозначенных от А (происходит от растений редиса дикого типа) до I. Тип F (Kosena, *kos*), выделенный из одноименного японского сорта редиса (Yamagishi, Tegashi, 2001), характеризуется делецией 39 пар нуклеотидов в последовательности *orf138*. Разновидность этого типа стерильности – *ogu*-NWSUAF – характеризуется наличием в митохондриальной ДНК одновременно двух маркерных генов, *orf138* и *orf222*. Стерильность *ogu*-NWSUAF отличается стабильным проявлением признака, отсутствием хлороза и хорошей завязываемостью семян (Zhao et al., 2010).

Фертильность пыльцы при ЦМС *ogu* восстанавливается в присутствии доминантного ядерного гена *Rfo*, продуктом которого является митохондриальный PPR-белок (Brown et al., 2003). Ген *Rfo* картирован на одной из хромосом генома С в группе сцепления N19 (Feng et al., 2009). Гомолог этого гена в геноме редиса – *Rfk1* – восстанавливает фертильность пыльцы у форм с ЦМС *kos*-типа (Niemelä et al., 2012; Yamagishi, Bhat, 2014).

ЦМС *ctr* выделена у образцов из сорта ‘Tower’, устойчивых к гербицидам триазинового ряда. Этот тип отличается от других тем, что в пыльниках стерильных растений на стадии профазы I мейоза дегенерируют материнские клетки пыльцы. Процесс сопровождается пролиферацией тапетума, который образует стомуиум пыльника, и пыльца не образуется (Grant et al., 1986).

У отдаленных гибридов дикорастущего вида двурыдки стеной (*Diplotaxis muralis* (L.) DC.) и капусты полевой (*Brassica campestris* L.) сорта ‘Yukina’ была описана стерильность, получившая название ЦМС *mur* (Hinata, Konno, 1979), а затем выявлена также у гибридов двурыдки стеной с яровым рапсом сорта ‘Regent’ (Fan et al., 1985). Однако практического значения этот тип стерильности не имеет, так как полученные с использованием ЦМС *mur* гибриды F₁ рапса имеют низкую завязываемость семян.

Аллоплазматическая ЦМС *оху* получена в результате повторного бекроссирования синтетического аллоплоида *Brassica oxyrrhina* Coss. (2n = 18, OO) × *B. campestris* (2n = 20, AA) с использованием культуры зародышей. Растения полученной линии, обладавшей ядерным геномом *B. campestris* и цитоплазмой дикорастущего вида *B. oxyrrhina*, характеризовались мелкими, тонкими, не растрескивающимися пыльниками со стерильной пыльцой (Prakash, Chopra, 1988). Все аллоплазматические линии с геномами культурных видов *Brassica* и цитоплазмой *B. oxyrrhina* страдали от хлороза. Для коррекции этого негативного признака проводили слияние протопластов *B. juncea* (L.) Czern. с ЦМС *оху* у линий *B. oleracea* с нормальной цитоплазмой, а затем отбирали соматические гибриды с желательными сочетаниями органелл, т. е. хлоропластами *B. oleracea* и рекомбинантными митохондриальными геномами. Новые варианты цитоплазмы *оху*-типа были перенесены в рапс и показали стабильное наследование (Arumugam et al., 2000).

Альтернативный аллоплазматический тип ЦМС *Nsa* был получен методом соматической гибридизации

рапса и горчицы полевой (*Sinapis arvensis* L.) (Hu et al., 2002); из фертильных соматических гибридов отобраны линии, несущие гены восстановления фертильности (Wei et al., 2010). Методом пиросеквенирования ДНК показано, что рекомбинантный митохондриальный геном форм с цитоплазмой *Nsa*-типа содержит последовательности обоих родительских видов, но в большей степени схож с геномом *Sinapis arvensis*; среди обнаруженных последовательностей наиболее вероятными кандидатами являются *orf224*, *orf309* и *orf346*, обладающие химерной и трансмембранной структурой. Этот тип стерильности проявляется стабильно и независимо от условий среды; он рассматривается в качестве весьма перспективного для обеспечения полноты гибридизации (Sang et al., 2019).

ЦМС *inap* была выделена из отдаленного соматического гибрида между рапсом и вайдой красильной (*Isatis indigotica* Fortune). Для ЦМС *inap*-типа характерно превращение тычинок в карпелоидные структуры. Большинство митохондриальных генов уносителей этого типа ЦМС получены от *I. indigotica*, и лишь один оказался рекомбинантным (Kang et al., 2017). Получена линия рапса, несущая ген *Rf*, интрогрессированный от донора митохондриальных генов (Li et al., 2019). Суммарные сведения о генетическом контроле наиболее изученных у рапса типов ЦМС приведены в таблице 2.

Для эффективного использования разнообразия стерильных цитоплазм в селекции рапса необходима их идентификация. Использование классических генетических методов для определения типа стерильности – очень длительный и трудоемкий процесс, требующий тщательного подбора тестеров. Более эффективны в этом плане методы молекулярных маркеров, разработанных на основе нуклеотидных последовательностей ЦМС-генов. Так, для идентификации цитоплазмы Shaan 2A (Havlíčková et al., 2012) были разработаны CAPS-маркеры, а для идентификации широко используемых в селекции цитоплазм *pol*, *nap*, *cam*, *ogu* и *ogu*-NWSUAF применен метод мультиплексной ПЦР (Zhao et al., 2010). С помощью набора из 22 праймеров, отобранных из литературных источников, Домблides с соавторами в своей работе дифференцировали носителей ЦМС *Oguga*, *ogu*-NWSUAF, *nap*, *pol*, *cam*, *rad*, *ole* у растений семейства капустных, в том числе и рапса (Domblides et al., 2015).

Поиск и отбор из расщепляющихся гибридных популяций носителей различных аллелей генов *Rf* – центральная проблема при создании родительских линий гибридов. В отличие от метода тест-скрещиваний, методы молекулярных маркеров позволяют во много раз ускорить процесс идентификации желаемых генотипов. Разными группами исследователей разработаны и рекомендованы для использования в маркер-опосредованной селекции (MAS) диагностические молекулярные маркеры (RFLP, AFLP, SCAR, SSR), сцепленные с генами *Rfp* (Jean et al., 1997; Zeng et al., 2009; Li et al., 2011; Liu et al., 2012), *Rfn* (Gaboreau, Brown, 2016) и *Rfo* (Mikolajczyk et al., 2008). На основе опубликованных первичных нуклеотидных последовательностей разработаны аллель-специфичные маркеры для гена *Rfo* (Hu et al., 2008; Afjani et al., 2019).

Новая гибридная система для рапса была изобретена в Германии в фирме NPZ-Lembke и названа как альтернативная ЦМС Male Sterility Lembke (MSL) (Frauen, 1987). На ее основе были созданы двунулевые (не содержащие эруковой кислоты в масле и глюкозинолатов в семенной муке) гибриды F₁ Joker и Pronto озимого

Таблица 2. Генетический контроль некоторых типов ЦМС рапса

Table 2. Genetic control of some CMS types in rapeseed

Тип ЦМС CMS type	Митохондриальный ген ЦМС Mitochondrial CMS gene	Ген восстановления фертильности пыльцы (белок) Fertility restoration gene (protein)	Ссылки References
<i>nap</i>		<i>Rfn</i> (PPR)	Liu et al., 2016
	<i>orf222</i>		Liu et al., 2017
<i>pol</i>		<i>Rfp</i> (PPR)	Liu et al., 2012
	<i>orf224</i>		Singh, Brown, 1993
<i>ogu</i>	<i>orf138</i>		Yamagishi, Terachi, 2001; Zhao et al., 2010
		<i>Rfo</i> (PPR)	Brown et al., 2003; Feng et al., 2009
<i>kos</i>	делеция 39 пар нуклеотидов	<i>Rfk1</i> (PPR)	Yamagishi, Terachi, 2001; Niemelä et al., 2012; Yamagishi, Bhat, 2014
<i>ogu-NWSUAF</i>	<i>orf138, orf222</i>		Zhao et al., 2010; Domblides et al., 2015
<i>Nsa</i>	<i>orf224, orf309, orf346</i>		Liu et al., 2016; Sang et al., 2019

рапса, внесенные в официальный список Германии в 1995 г. Эта система использует для получения гибридов одновременно как цитоплазматическую, так и ядерную мужскую стерильность. Получен этот тип стерильности от единичной спонтанной мутации, однако источник стерильности и родительские линии являются секретом фирмы, что затрудняет ее изучение. Метод создания гибрида предусматривает использование материнских женских линий с мужской стерильностью (с генотипом *Msmsrfrf*), линий – закрепителей стерильности с мужской фертильностью (с генотипом *msmsrfrf*), основных женских линий с мужской стерильностью (с генотипом *Msmsrfrf*) и гибридных линий. Представлена схема получения таких линий (Stiewe et al., 2010). Кроме этого, предложены маркеры, ассоциированные с аллелями стерильности, фертильности, а также с аллелями, закрепляющими стерильность.

Для промышленного производства гибридов получены патенты на следующие системы: Ogura CMS (во Франции), Polima CMS (в Китае) и MSL CMS (в Германии).

Селекция гибридного рапса в Российской Федерации

В Госреестре Российской Федерации среди вновь включенных позиций за 2017–2020 гг. доля гибридов ярового рапса составляет более 70%, гибридов (и родительских линий для создания гибридов) озимого рапса – свыше 80%. В России районированы гибриды рапса всех ведущих семеноводческих учреждений Европы, Северной Америки и Австралии: Bayer Cropscience AG, Deutsche Saatveredelung AG, KWS Saat SE, Monsanto Saaten GMBH, Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Saatveredelung AG (Германия), Cargill Incorporated, Monsanto Technology LLC, Pioneer Overseas Corporation, Pioneer Hi-Bread International INC (США), Caussade Semences SA, Eur-

lis Semences, Limagrain Europe, Sarl Adrien Momont et Fils, Serasem (Франция), Dow Agrosciences, Saatbau Linz Egen, Saatucht Donau GMBH Cokg (Австрия), Lantmannen SW Seed AB, Svalof Weibull AB, SW Winter Oilseed AB (Швеция), Monsanto International SARL, Syngenta Crop Protection AG (Швейцария), Pacific Seeds PTY LTD (Австралия), РУП НПЦ НАН Беларуси по земледелию. В характеристике гибридов не указывается тип стерильности, но можно предполагать, что гибриды из Франции и США созданы на основе системы ЦМС Ogura, а гибриды немецкой фирмы Lembke – на основе MSL CMS.

В селекционных учреждениях России также ведутся исследования, направленные на создание производственных гибридов рапса: оценка эффекта гетерозиса, подбор пар генотипов для скрещиваний, поиск источников стерильности, разработка схемы семеноводства, изучение особенностей роста и развития гибридов по сравнению с сортами, использование методов ускорения селекционного процесса, улучшение биохимических показателей семян.

Для оценки гетерозиса у рапса во ВНИИ масличных культур имени В.С. Пустовойта (ВНИИМК, Краснодарский край) проведены исследования возможности создания гетерозисных гибридов рапса (Voskresenskaya, Shelkoudenko, 1974). Было показано, что у межсортовых гибридов озимого рапса уровень гетерозиса по урожаю семян в среднем составляет 20,7%, а у ярового – 18,2%. Лучшие гибриды рапса превосходили сорта-стандарты по урожаю семян на 40–60%. Дальнейший анализ проявления гетерозиса по урожайности семян и элементам структуры урожая показал, что у изученных гибридов повышение урожайности семян по сравнению с родительскими образцами происходило за счет образования большего количества ветвей 1-го порядка и, как следствие, увеличения числа стручков на растении; при этом масса 1000 семян и число семян в стручке не изменялись.

Сравнение урожайности семян гибридов рапса в нескольких поколениях подтвердило явление снижения эффекта гетерозиса от F_1 к F_3 (Gorlov, Vochkaryova, 1995). Было проведено сравнительное изучение сортов озимого рапса и районированных в той же зоне иностранных гибридов по урожаю и качеству семян, а также по особенностям роста и развития растений (Gorlov et al., 2015). На основе четырехлетнего изучения образцов (20 в группе сортов и 20 в группе гибридов) было показано, что главным преимуществом гибридов является высокий темп роста и развития растений осенью, в наиболее критичный период развития, что позволяет им лучше перенести неблагоприятные условия перезимовки. Урожай семян гибридов в среднем за три года был на 15% выше урожая сортов. Однако иностранные гибриды в изученной группе характеризовались меньшей масличностью семян и более высоким содержанием глюкозинолатов, чем отечественные сорта.

Подбор исходного материала для селекции рапса на гетерозис проведен также во ВНИИ рапса в Липецке. В результате изучения межсортовых и межлинейных гибридов были выделены образцы ярового рапса 'Andor' (из Канады), 'Шпат' (селекции ВНИИМК) и 'Золотонивский' (Омский СХИ), перспективные для селекции на гетерозис в условиях Центрально-Черноземного региона (Nikonogonkov et al., 1991).

При поиске источников ЦМС во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) в процессе морфологической оценки образцов коллекционных посевов рапса были обнаружены 2 яровых и 12 озимых сортов с долей стерильных растений от 5 до 50%, а также 2 сорта ярового рапса с полустерильными растениями. Описаны два варианта проявления мужской стерильности, один из которых, по-видимому, имеет цитоплазматическую природу. При анализе результатов гибридизации и самоопыления родительских форм показано, что сорт 'Brongono', поступивший в коллекцию из Австралии, является закрепителем стерильности для описанной формы (Anashchenko et al., 1989), предположительно ЦМС *nap*. Из сорта 'Tira', полученного из Германии, был выделен источник мужской стерильности. Впоследствии было выявлено, что признак контролируется ядерными генами, а при анализе типа цитоплазмы, проведенном в Институте овощеводства, было установлено, что этот сорт также характеризуется стерильной цитоплазмой типа *nap* (Domblides et al., 2015). В дальнейших опытах, которые проводили совместно с Ленинградским НИИСХ «Белогорка», были использованы два варианта системы ЦМС Polima, полученные из Agriculture Canada Research Station (Saskatoon): на основе сорта 'Regent' и на основе позднеспелого ярового сорта. Идентификация типа цитоплазмы в Институте овощеводства с использованием стандартной и мультиплексной ПЦР подтвердила, что позднеспелая система ЦМС относится к типу Polima, а система на основе сорта 'Regent', возможно, сочетает факторы *pol-* и *nap-* типа (Domblides et al., 2015).

Исследования во ВНИИМК были продолжены с использованием полученной из INRA (Франция) системы ЦМС Oguira, включающей восстановитель фертильности пыльцы на стерильной основе (Vochkaryova et al., 2018).

В результате скрининга рабочей коллекции во ВНИИ рапса был выделен источник ЦМС из немецкого сорта 'Masoga', получивший название CMS *mas*, который идентифицирован как тип Polima, причем он сохранял стерильность при высоких температурах. Было установлено,

что цитоплазматическая мужская стерильность у выделенной авторами линии из сорта 'Masoga' проявляется в присутствии одной пары рецессивных ядерных генов *fff* и устойчиво сохраняет стерильность в условиях Центрально-Черноземного региона России. Показано, что полученные опытные гибриды проявляют гетерозисный эффект по продуктивности семян и по вегетативной массе растения (Zhidkova et al., 1997). Помимо этого типа стерильности, во ВНИИ рапса используют систему стерильности Oguira, предоставленную Р.В.Е. McVetty из университета Winnipeg (Канада) (Karpachev, Pastukhov, 2017).

Для ускорения трудоемкого и длительного процесса получения отцовских линий гибридов во ВНИИ рапса был разработан оригинальный способ создания восстановителей фертильности с использованием культуры гаплоидов, полученных из растений со стерильной цитоплазмой и генами восстановления фертильности. Неоплодотворенные семязачатки вводили в культуру, осуществляли стабилизацию и микроразмножение полученных гаплоидных линий с последующим получением дигаплоидов и в дальнейшем растений – восстановителей фертильности. На эту методику был оформлен патент (Goryagina et al., 2009).

При создании гибридов уделяется внимание не только урожаю семян, но и другим важным для производства признакам, в том числе устойчивости к вредителям. Во ВНИИ рапса разработан способ получения гибридов, устойчивых к поражению распространенным в этой зоне скрытнохоботником (Karpachev, Nikonogonkov, 1994), который состоит в чередовании рядов материнской формы с ЦМС и отцовской формы – восстановителя фертильности, удалении отцовских растений после цветения и выращивании материнской линии до созревания семян. В качестве материнской формы используют растения, обладающие репеллентными свойствами к скрытнохоботнику, а в качестве отцовской – растения, обладающие аттрактивными свойствами к данному вредителю.

В опытах по оценке сортов и линий рапса в качестве родительских форм гибридов во ВНИИМК использовали озимые сорта и инбредные линии 5–7 поколения с высокой общей и специфической комбинационной способностью (Vochkaryova et al., 2019b). У ярового рапса изучали дигаплоидные линии, полученные методом культуры пыльников и изолированных микроспор на основе гибридов F_1 сортов селекции ВНИИМК 'Кубанский', 'Эввин', 'Ярвэлон' с сортами иностранной селекции (Vochkaryova et al., 2019b). Было установлено, что перевод линий рапса с фертильной цитоплазмы на цитоплазму Oguira не оказывает негативного влияния на такие хозяйственные признаки, как урожайность семян, масличность, продолжительность вегетационного периода, высота растения (Vochkaryova et al., 2018). Отсутствие снижения урожая семян при переводе на стерильную цитоплазму подтверждается также данными, полученными во ВНИИ рапса (Karpachev, Pastukhov, 2017). Однако при переносе генов *Rf* в предполагаемые отцовские линии оказалось, что содержание глюкозинолатов в них повышено по сравнению с исходными образцами. Методом инбридинга и последующего отбора удалось создать линии – восстановители фертильности пыльцы с приемлемым уровнем глюкозинолатов в семенах (13,8–17,9 мкмоль/г) (Vochkaryova et al., 2019a). В результате получены первые экспериментальные гибриды озимого рапса, среди которых семь имели урожайность на 23–48% выше стандарта (Gorlova et al., 2019).

В совместных разработках ВИР и Ленинградского НИИ ИСХ «Белогорка» с использованием ЦМС Polima созданы родительские линии гибридов ярового рапса на основе скороспелых и устойчивых к полеганию сортов, пригодных для выращивания в условиях Северо-Западного региона России. В качестве исходного материала были взяты сорта серии «Оредеж» селекции «Белогорки», сорта 'Ратник' и 'Форвард' из ВНИИ рапса, 'Hja 82708' из Финляндии, 'Eho' и 'Jenny' из Швеции и 'Zemu 2080' из Австралии. По результатам Л. П. Бекиш, в конкурсном сортоиспытании экспериментальных гибридов наибольший эффект гетерозиса по урожаю семян показан у гибрида с использованием материнской линии на основе сорта 'Оредеж 3'.

Для подбора оптимальных родительских пар гибридов во ВНИИ рапса скрещивали андроклинные (дигаплоидные) линии, полученные из отечественных сортов, с линиями из сорта 'Traiblazer', а андроклинные линии из сортов иностранной селекции – с линией из сорта 'Ратник'. Анализ изменения количественных признаков (урожай семян гибридных растений, масса 1000 семян, высота растений) показал, что влияние специфической комбинационной способности родительских форм на изменчивость большинства количественных признаков выше, а влияние общей комбинационной способности на проявление гетерозиса у гибридного потомства значительно ниже (Karpachev et al., 2015).

Были изучены по биологическим и селекционным ценным характеристикам стерильные линии и восстановители фертильности типов стерильности Polima и Ogura, а также экспериментальные гибриды на их основе. Выявлено, что источник стерильной цитоплазмы существенно не влиял на продуктивность изучаемых образцов, а продуктивность фертильного закрепителя стерильности чаще всего была выше, чем у стерильных образцов. Созданные гибриды F₁ существенно превысили по урожайности стандартный сорт 'Ратник'. Установлено, что для получения гибридов на цитоплазме Polima практический интерес представляет восстановитель LHR-1, а на цитоплазме Ogura – восстановитель RGR-1. При этом восстановитель типа Polima дает более низкий гетерозисный эффект, чем восстановитель типа Ogura (Karpachev, Pastukhov, 2017).

Таким образом, у рапса созданы системы ЦМС на основе различных источников. Изучен генетический контроль проявления стерильности и восстановления фертильности. В селекционных учреждениях России созданы материнские и отцовские линии, а также получены экспериментальные гибриды на основе систем ЦМС Ogura или Polima для условий Краснодарского края, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов. Использование молекулярных маркеров позволит ускорить процесс гетерозисной селекции рапса.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № 0662-2019-0001 «Коллекция масличных и прядильных культур ВИР: поддержание, изучение, расширение генетического разнообразия», номер государственной регистрации АААА-А19-119013090159-5.

The research was performed within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0001 "The Collection of Oil and Fiber Crops at VIR: Maintenance, Study, and Genetic Diversity Expansion", State Registration No. АААА-А19-119013090159-5.

References/Литература

- Afjani J.A., Najafabadi M.S., Mirfakhraei R.G. Gene-based marker to differentiate among B, A, and R lines in hybrid production of rapeseed ogura system. *Iranian Journal of Biotechnology*. 2019;17(3):e1870. DOI: 10.29252/ijb.1870
- Anashchenko A.V., Gavrilova V.A., Dubovskaya A.G. Male sterility in canola. *Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding*. 1989;125:86-91. [in Russian] (Анащенко А.В., Гаврилова В.А., Дубовская А.Г. Мужская стерильность у рапса. *Сборник научных трудов по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 1989;125:86-91).
- Arumugam N., Mukhopadhyay A., Gupta V.Y., Sodhi S., Verma J.K., Pental D. et al. Somatic cell hybridization of 'oxy' CMS *Brassica juncea* (AABB) with *B. oleracea* (CC) for correction of chlorosis and transfer of novel organelle combinations to allotetraploid brassicas. *Theoretical and Applied Genetics*. 2000;100:1043-1049. DOI: 10.1007/s001220051385
- Bartkowiak-Broda I., Rousselle P., Renard M. Investigations of two kinds of cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Genetica Polonica*. 1979;20(4):487-497.
- Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. Breeding of winter rapeseed inbred lines for the development of parent forms for hybrids. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019a;180(4):121-125. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекция инбредных линий рапса озимого для создания родительских форм гибридов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019a;180(4):121-125). DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-121-125
- Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. Breeding value of dihaploid lines of spring rapeseed (*Brassica napus* L.). *Oil Crops*. 2019b;4(180):18-22. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Селекционная ценность дигаплоидных линий рапса ярового (*Brassica napus* L.). *Масличные культуры*. 2019b;4(180):18-22). DOI: 10.25230/2412-608X-2019-4-180-18-22
- Bochkaryova E.B., Gorlova L.A., Serdyuk V.V., Strelnikov E.A. The results and perspectives of breeding of winter rapeseed hybrids in VNIIMK. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2018;4(176):48-57. [in Russian] (Бочкарева Э.Б., Горлова Л.А., Сердюк В.В., Стрельников Е.А. Результаты и перспективы селекции гибридов рапса озимого во ВНИИМК. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2018;4(176):48-57). DOI: 10.25230/2412-608X-2018-4-176-48-57
- Brandle J.E., McVetty P.B.E. Geographical diversity, parental selection and heterosis in oilseed rape. *Canadian Journal of Plant Sciences*. 1990;70:935-940.
- Brown G.G., Formanová N., Jin H., Wargachuk R., Dendy C., Patil P. et al. The radish *Rfo* restorer gene of *Ogura* cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant Journal*. 2003;35(2):262-272. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2003.01799.x
- Domblides E.A., Domblides A.S., Zayachkovskaya T.V., Bondareva L.L. Identification of cytoplasm types in accessions of the family Brassicaceae (Brassicaceae Burnett) with DNA markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(5):529-537. [in Russian] (Домблидес Е.А., Домблидес А.С., Заячковская Т.В.,

- Бондарева Л.Л. Определение типа цитоплазмы у растений семейства Капустные (Brassicaceae Burnett) с помощью ДНК маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2015;19(5):529-537. DOI: 10.18699/VJ15.069
- Fan Z., Stefansson B.R., Sernyk J.L. Maintainers and restorers for three male-sterility inducing cytoplasm in rape (*Brassica napus* L.). *Canadian Journal of Plant Sciences*. 1986;66:229-234.
- Feng J., Primomo V., Li Z., Zhang Y., Jan C.C., Tulsieram L. et al. Physical localization and genetic mapping of the fertility restoration gene *Rfo* in canola (*Brassica napus* L.). *Genome*. 2009;52(4):401-407. DOI: 10.1139/g09-016
- Frauen M. Aspects of seed production of hybrid varieties of rape. In: W.P. Feistritz, A. Fenwick Kelly. *Hybrid seed production of selected cereal and vegetable crops. FAO Plant Production and Protection Papers. Issue 82*. Rome: FAO; 1987. p.281-300.
- Fu T.D. Production and research of rapeseed in the People's Republic of China. *Eucarpia Cruciferae Newsletter*. 1981;6:6-7.
- Fujii S., Bond C.S., Small I.D. Selection patterns on restorer-like genes reveals a conflict between nuclear and mitochondrial genomes throughout angiosperm evolution. *PNAS*. 2011;108(4):1723-1728. DOI: 10.1073/pnas.1007667108
- Gaborieau L., Brown G.G. Comparative genomic analysis of the compound *Brassica napus* *Rf* locus. *BMC Genomics*. 2016;17:834. DOI: 10.1186/s12864-016-3117-0
- Goncharov S.V., Gorlova L.A. Stronger rapeseed competition in Russia. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2018;1(173):36-41. [in Russian] (Гончаров С.В., Горлова Л.А. Изменение сортимента рапса в России в результате конкуренции на рынке семян. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2018;1(173):36-41). DOI: 10.25230/2412-608X-2018-1-173-36-41
- Gorlov S.L., Bochkaryova E.B. Manifestation of the heterosis effect in intervarietal hybrids of winter rape. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 1995;116:17-22. [in Russian] (Горлов С.Л., Бочкарева Э.Б. Проявление гетерозисного эффекта у межсортовых гибридов озимого рапса. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всесоюзного научно-исследовательского института масличных культур*. 1995;116:17-22).
- Gorlov S.L., Gorlova L.A., Bochkaryova E.B., Serdyuk V.V. The results of trials of winter rapeseed cultivars and hybrids in a central zone of the Krasnodar region. *Oil Crops. Scientific and Technical Bulletin of VNIIMK*. 2015;1(161):52-56. [in Russian] (Горлов С.Л., Горлова Л.А., Бочкарева Э.Б., Сердюк В.В. Результаты испытания сортов и гибридов рапса озимого в условиях центральной зоны Краснодарского края. *Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур*. 2015;1(161):52-56).
- Gorlova L.A., Bochkaryova E.B., Strelnikov E.A., Serdyuk V.V. The use of classical and modern methods in rapeseed (*Brassica napus*) breeding at VNIIMK. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2019;180(4):126-131. [in Russian] (Горлова Л.А., Бочкарева Э.Б., Стрельников Е.А., Сердюк В.В. Использование классических и современных методов в селекции рапса (*Brassica napus*) во ВНИИМК. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2019;180(4):126-131. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-4-126-131
- Goryagina E.B., Nikonorenkov V.A., Podvigina O.A., Karpachev V.V. A method for creating spring rape fertility restoring agents (*Brassica napus* L.) (Способ создания восстановителей фертильности ярового рапса [*Brassica napus* L.]). Russian Federation; patent number: 2366705; 2009. [in Russian] (Горягина Е.Б., Никоноренков В.А., Подвикина О.А., Карпачев В.В. Способ создания восстановителей фертильности ярового рапса (*Brassica napus* L.). Российская Федерация; патент № 2366705; 2009).
- Gourret J.P., Delourme R., Renard M. Expression of *ogu* cytoplasmic male sterility in cybrids of *Brassica napus*. *Theoretical and Applied Genetics*. 1992;83:549-556. DOI: 10.1007/BF00226898
- Grant I., Beversdorf W.D., Peterson R.L. A comparative light and electron microscopic study of microspore and tapetal development in male fertile and cytoplasmic male sterile oilseed rape (*Brassica napus*). *Canadian Journal of Botany*. 1986;64(5):1055-1068.
- Hanson M.R., Bentolila S. Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. *The Plant Cell*. 2004;16:154-169. DOI: 10.1105/tpc.015966
- Havlíčková L., Čurn V., Jozová E., Kučera V., Vyvadilová M., Klíma M. Sequence analysis of the mtDNA region correlated with *Shaan 2A* cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2012;48(3):139-142. DOI: 10.17221/144/2012-CJGPB
- Heyn F.W. Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. *Cruciferae Newsletter*. 1976;1:15-16.
- Hinata K., Konno N. Studies on a male sterile strain having the *Brassica campestris* nucleus and the *Diplotaxis muralis* cytoplasm. 1. On the breeding procedure and some characteristics of the male sterile strain. *Japanese Journal of Breeding*. 1979;29(4):305-311.
- Hu Q., Andersen S., Dixelius C., Hansen L. Production of fertile intergeneric somatic hybrids between *Brassica napus* and *Sinapis arvensis* for the enrichment of the rapeseed gene pool. *Plant Cell Reports*. 2002;21(2):147-152. DOI: 10.1007/s00299-002-0491-7
- Hu X., Sullivan-Gilbert M., Kubik T., Danielson J., Hnatiuk N., Marchione W. et al. Mapping of the *Ogura* fertility restorer gene *Rfo* and development of *Rfo* allele-specific markers in canola (*Brassica napus* L.). *Molecular Breeding*. 2008;22(4):663-674. DOI: 10.1007/s11032-008-9207-1
- Jean M., Brown G.G., Landry B.S. Genetic mapping of nuclear fertility restorer genes for the 'Polima' cytoplasmic male sterility in canola (*Brassica napus* L.) using DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 1997;95:321-328. DOI: 10.1007/s001220050566
- Jeong S.W., Yi H., Song H., Lee S.S., Park Y.I., Hur Y. Chlorosis of *Ogura*-CMS *Brassica rapa* is due to down-regulation of genes for chloroplast proteins. *Journal of Plant Biotechnology*. 2017;44:115-124. DOI: 10.5010/JPB.2017.44.2.115
- Ivanov M.K., Dymshits G.M. Cytoplasmic male sterility and restoration of pollen fertility in higher plants. *Russian Journal of Genetics*. 2007;43(4):354-368. DOI: 10.1134/S1022795407040023
- Kang L., Li P., Wang A., Ge X., Li Z. A novel cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* (inap CMS) with carpeloid stamens via protoplast fusion with Chinese woad.

- Frontiers in Plant Science*. 2017;8:529. DOI: 10.3389/fpls.2017.00529
- Karpachev V.V., Nikonorenkov V.A. The method of obtaining hybrid rapeseed seeds (*Brassica napus* L.) (Sposob polucheniya gibridnykh semyan rapsa [*Brassica napus* L.]). Russian Federation; patent number: 201330; 1994. [in Russian] [Карпачев В.В., Никоноренков В.А. Способ получения гибридных семян рапса (*Brassica napus* L.). Российская Федерация; патент № 2013042; 1994).
- Karpachev V.V., Pastukhov I.O. Evaluation of new material for heterotic breeding of spring rape created on the basis of two CMS systems. *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2017;3(54):31-36. [in Russian] [Карпачев В.В., Пастухов И.О. Оценка нового материала для гетерозисной селекции ярового рапса, созданного на основе двух систем ЦМС. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета*. 2017;3(54):31-36.]. DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.3.31
- Karpachev V.V., Pastukhov I.O., Vlasova A.N. Combination ability of rape in the system of diallel crossings (Kombinatsionnaya sposobnost rapsa v sisteme diallelnykh skreshchivaniy). In: *Proceedings of the International Scientific and Practical Internet Conference "Agrarian Science: Development and Prospects", October 5, 2015 (Materialy mezhdunarodnoy nauchno-praktocheskoy Internet-konferentsii 'Agraranaya nauka: razvitiye i perspektivy', 5 oktyabrya 2015 g.)*. Nikolaev, Ukraine; 2015. p.80-81. [in Russian] [Карпачев В.В., Пастухов И.О., Власова А.Н. Комбинационная способность рапса в системе диаллельных скрещиваний. *Материалы Международной научно-практической Интернет-конференции «Аграрная наука: Развитие и перспективы», 5 октября. 2015 г.* Николаев, Украина; 2015. С. 80-81]. URL: <http://vniirapsa.ru/Documents/Konferencii/2015/Sbornik2015.pdf> (дата обращения: 05.03.2020)
- Li P., Kang L., Wang A., Cui C., Jiang L., Guo S. et al. Development of a fertility restorer for *inap* CMS (*Isatis indigotica*) *Brassica napus* through genetic introgression of one alien addition. *Frontiers in Plant Science*. 2019;10:257. DOI: 10.3389/fpls.2019.00257
- Li Y., Liu Z., Cai Q., Yang G.S., He Q.B., Liu P.W. Identification of a microsatellite marker linked to the fertility-restoring gene for a polima cytoplasmic male-sterile line in *Brassica napus* L. *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(47):9563-9569. DOI: 10.5897/AJB11.1009
- Lisnyak A.D., Pershin A.F., Ivanov M.V. Features of CMS in winter rape hybrids of Ukrainian breeding. *Scientific and Technical Bulletin of the Institute of Oil Crops, NAAS*. 2011;16:21-26. [in Russian] [Лисняк А.Д., Першин А.Ф., Иванов М.В. Особенности ЦМС у гибридов озимого рапса украинской селекции. *Науково-технічний бюллетень Інституту олійних культур НААН*. 2011;16:21-26).
- Liu Z., Dong F., Wang X., Wang T., Su R., Hong D. et al. A pentatricopeptide repeat protein restores *nap* cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. *Journal of Experimental Botany*. 2017;68(15):4115-4123. DOI: 10.1093/jxb/erx239
- Liu Z., Liu P., Long F., Hong D., He Q., Yang G. Fine mapping and candidate gene analysis of the nuclear restorer gene *Rfp* for *pol* CMS in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 2012;125(4):773-779. DOI: 10.1007/s00122-012-1870-2
- Liu Z., Yang Z., Wang X., Li K., An H., Liu J. et al. A mitochondria-targeted PPR protein restores *pol* cytoplasmic male sterility by reducing *orf224* transcript levels in oilseed rape. *Molecular Plant*. 2016;9(7):1082-1084. DOI: 10.1016/j.molp.2016.04.004
- Motegi T., Nou I.S., Zhou J., Kanno A., Kameya T., Hirata Y. Obtaining an Ogura-type CMS line from asymmetrical protoplast fusion between cabbage (fertile) and radish (fertile). *Euphytica*. 2003;129:319-323. DOI: 10.1023/A:1022284803689
- Niemelä T., Seppänen M., Badakshi F., Rokka V.M., Heslop-Harrison J.S. Size and location of radish chromosome regions carrying the fertility restorer *Rfk1* gene in spring turnip rape. *Chromosome Research*. 2012;20(3):353-361. DOI: 10.1007/s10577-012-9280-5
- Nikonorenkov V.A., Karpachev V.V., Zhidkova E.N. Spring rapeseed accessions for heterosis breeding (Obraztsy yarovogo rapsa dlya selektsii na geterozis). *Selektsiya i semenovodstvo = Plant Breeding and Seed Production*. 1991;5:23. [in Russian] [Никоноренков В.А., Карпачев В.В., Жидкова Е.Н. Образцы ярового рапса для селекции на гетерозис. *Селекция и семеноводство*. 1991;(5):23].
- Ogura H. Studies on the new male sterility in Japanese radish, with special reference to the utilization of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. *Memories of the Faculty of Education Kagoshima University*. 1968;6(2):39-78.
- Prakash S., Chopra V.L. Synthesis of alloplasmic *Brassica campestris* as a new source of cytoplasmic male sterility. *Plant Breeding*. 1988;101(3):253-255. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1988.tb00295.x
- Rousselle P., Bregeon M. Premiers résultats d'un programme d'introduction de l'androstérilité "Ogura" du radis ches le colza. *Agronomie*. 1982;2(9):859-864. [in French] DOI: 10.1051/agro:19820910
- Rousselle P., Renard M. Study of a cytoplasmic male sterility in rapeseed (*B. napus*). *Cruciferae Newsletter*. 1978;3:40-41.
- Sang S.F., Mei D.S., Liu J., Zaman Q.U., Zhang H.Y., Hao M.Y. et al. Organelle genome composition and candidate gene identification for *Nsa* cytoplasmic male sterility in *Brassica napus*. *BMC Genomics*. 2019;20(1):813. DOI: 10.1186/s12864-019-6187-y
- Shen J., Wang H., Fu T., Tian B. Cytoplasmic male sterility with self-incompatibility, a novel approach to utilizing heterosis in rapeseed (*Brassica napus* L.). *Euphytica*. 2008;162(1):109-115. DOI: 10.1007/s10681-007-9606-0
- Singh M., Brown G.G. Characterization of expression of a mitochondrial gene region associated with the brassica "Polima" CMS: development influences. *Current Genetics*. 1993;24(4):316-322. DOI: 10.1007/BF00336783
- Stiewe G., Pleines S., Coque M., Gielen J. New hybrid system for *Brassica napus*. European Union; patent number: EP 2220930 A2; 2010. Available from: <https://patentimages.storage.googleapis.com/57/3b/0a/a43c20da7c6354/EP2220930A2.pdf> [accessed May 06, 2020].
- Tanaka Y., Tsuda M., Yasumoto K., Yamagishi H., Terachi T. A complete mitochondrial genome sequence of Ogura-type male-sterile cytoplasm and its comparative analysis with that of normal cytoplasm in radish (*Raphanus sativus* L.). *BMC Genomics*. 2012;13:352. DOI: 10.1186/1471-2164-13-352
- Thompson K.F. Cytoplasmic male-sterility in oil-seed rape. *Heredity*. 1972;29(2):253-257. DOI: 10.1038/hdy.1972.89
- Voskresenskaya G.S., Shelkoudenko V.G. Heterosis in intervarietal winter rape hybrids in reciprocal crosses (Geterozis u mezhsortovykh gibridov ozi-

- мого рапса в рецiproкных скрещиваниях). *Agricultural Biology*. 1974;9(4):529-533. [in Russian] (Воскресенская Г.С., Шелкоуденко В.Г. Гетерозис у межсортовых гибридов озимого рапса в рецiproкных скрещиваниях. *Сельскохозяйственная биология*. 1974;9(4):529-533).
- Wang Y., Ma S., Wang M., Zheng X., Gu M., Hu S. Sequence analysis of the gene correlated with cytoplasmic male sterility (CMS) in rape-seed (*Brassica napus*) Polima and Shaan 2A. *Chinese Science Bulletin*. 2002;47:124-128. DOI: 10.1360/02tb9028
- Wei W., Li Y., Wang L., Liu S., Yan X., Mei D. et al. Development of a novel *Sinapis arvensis* disomic addition line in *Brassica napus* containing the restorer gene for *Nsa* CMS and improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* and pod shattering. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;120(6):1089-1097. DOI: 10.1007/s00122-009-1236-6
- Yamagishi H., Bhat S.R. Cytoplasmic male sterility in Brassicaceae crops. *Breeding Science*. 2014;64(1):38-47. DOI: 10.1270/jsbbs.64.38
- Yamagishi H., Terachi T. Intra- and inter-specific variations in the mitochondrial gene *orf138* of Ogura-type male-sterile cytoplasm from *Raphanus sativus* and *Raphanus raphanistrum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 2001;103:725-732. DOI: 10.1007/s001220100614
- Yang G.S., Fu T.D., Yang X.N. Studies on the ecotypical male sterile line of *Brassica napus* L. *Acta Agronomica Sinica*. 1995;21(2):29-135.
- Zeng F., Yi B., Tu J., Fu T. Identification of AFLP and SCAR markers linked to the male fertility restorer gene of *pol* CMS (*Brassica napus* L.). *Euphytica*. 2009;165:363-369. DOI: 10.1007/s10681-008-9799-x
- Zhao H.X., Li Z.J., Hu S.W., Sun G.L., Chang J.J., Zhang Z.H. Identification of cytoplasm types in rapeseed (*Brassica napus* L.) accessions by multiplex PCR assay. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;121(4):643-650. DOI: 10.1007/s00122-010-1336-3
- Zhidkova E.N., Karpachev V.V., Nikonorenkov V.A. New CMS source for rapeseed breeding (Novy istochnik TsMS dlya selektsii rapsa). *Selektsiya i semenovodstvo = Plant Breeding and Seed Production*. 1997;(2):52. [in Russian] (Жидкова Е.Н., Карпачев В.В., Никоноренков В.А. Новый источник ЦМС для селекции рапса. *Селекция и семеноводство*. 1997;(2):52).

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Анисимова И.Н., Дубовская А.Г. Системы ЦМС у рапса и их использование в селекции отечественных гибридов. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2020;181(3):171-180. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

Anisimova I.N., Dubovskaya A.G. CMS systems in rapeseed and their use in the breeding of domestic hybrids. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2020;181(3):171-180. DOI: 10.30901/2227-8834-2020-3-171-180

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2020-3-171-180>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Anisimova I.N. <https://orcid.org/0000-0003-0474-8860>

Dubovskaya A.G. <https://orcid.org/0000-0003-2487-5912>