

УДК 631.527.56:633.854.78

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

© 2007 г. В. Н. Попов¹, В. В. Кириченко^{1,2}

¹*Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
(Харьков, Украина)*

²*Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева Украинской академии аграрных наук
(Харьков, Украина)*

В обзоре рассматриваются различные типы мужской стерильности подсолнечника: генная мужская стерильность (ГМС), цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) и стерильность, индуцированная различными факторами. Обобщены результаты исследований в области наследования ГМС и ЦМС, маркирования генов, отвечающих за проявление мужской стерильности подсолнечника, с использованием различных молекулярных маркеров. Рассмотрены вопросы взаимодействия плазмона и генома в проявлении ЦМС. Показана роль гиббереллина в индукции стерильности у подсолнечника. Уделено внимание теоретическому и практическому использованию биохимических и молекулярных маркеров в гетерозисной селекции подсолнечника.

Ключевые слова: *Helianthus, цитоплазматическая мужская стерильность, генная мужская стерильность, изменчивость, наследование, маркеры*

В мире среди масличных сельскохозяйственных культур подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) занимает одно из первых мест как по посевным площадям, так и по востребованности в народном хозяйстве. В производстве в основном выращивают гетерозисные гибриды, занимающие в Украине около 3,4 млн. га посевных площадей. Их селекция ведется в четырех направлениях: масличное, кондитерское, декоративное и кормовое [9, 24, 35]. Создание высокопродуктивных и адаптированных гибридов не мыслимо без наличия мужскостерильных форм и форм восстановителей фертильности пыльцы.

Первое описание мужской стерильности подсолнечника можно найти в работе А. Купцова (цит. по [17]). Она была выявлена в индийском образце в 1929 г. Впоследствии через несколько десятков лет П. Леклерк открыл цитоплазматическую мужскую стерильность [80], после чего многими исследователями началось активное изучение этого биологического яв-

ления у подсолнечника, приведшее к выявлению различных типов цитоплазм, установлению наследования мужской стерильности и внедрению его в селекционно-семеноводческую практику.

У подсолнечника можно выделить несколько типов мужской стерильности в зависимости от факторов, обуславливающих ее проявление: цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС), генная мужская стерильность (ГМС), индуцированная мужская стерильность и стерильность, возникшая вследствие различных хромосомных мутаций (таблица). Каждый из вышеперечисленных типов стерильности имеет не только теоретическое значение, например, для выяснения взаимодействия генома и плазмона (при ЦМС), механизма действия ядерных генов (при ГМС и ЦМС), влияния различных веществ на прохождение микроспорогенеза, но и практическое – для создания высокопродуктивных гибридов различного направления.

Большинство современных гибридов подсолнечника создаются на основе ЦМС, хотя в 60-70 г. XX-го столетия для получения гибридов использовали также и ГМС, контролируемую генами *ms* [17]. Основные исследова-

Адрес для корреспонденции: Попов Виталий Николаевич, Харьковский национальный аграрный университет, п/о “Коммунист-1”, Харьков, 62483, Украина, e-mail: ynpop@mail.ru

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Основные типы стерильности подсолнечника

Тип стерильности	Причина появления мужской стерильности	Примечание	Источник
Генная	Ядерные гены <i>ms</i> и <i>msk</i>	Известно 11 <i>ms</i> генов и 1 <i>msk</i> ген	[15, 17, 38, 44, 67]
Цитоплазматическая	Взаимодействие плазматических генов и генов ядра <i>Rf</i>	Описано 4 гена <i>Rf</i>	[3-5, 64]
Модификационная	Биотические и абиотические факторы среды и гаметоциды	Индуцируется ложной мучнистой росой, высокими температурами, 24-ч фотопериодом; в качестве гаметоцида используют гиббереллин	[1, 19, 36]
Хромосомная	Различные типы аберраций при прохождении мейоза	Часто возникают при отдаленной гибридизации подсолнечника	[58, 75]

ния по индукции мужской стерильности с использованием гаметоцидов (для подсолнечника используют гибберелловую кислоту) приходится на 70-80 гг., когда было показано действие гиббереллина на прохождение различных стадий микроспорогенеза [29, 48]. Для получения гибридных семян на основе ЦМС важное значение имеет не только создание нового исходного материала на основе цитоплазмы РЕТ1 (выделена из *H. petiolaris*) – стерильных аналогов и восстановителей фертильности, но и поиск новых источников ЦМС, а к ним, в свою очередь, и соответствующих генов *Rf*.

Наличие большого количества видов рода *Helianthus* (всего 49), среди которых встречаются однолетние и многолетние с различным уровнем ploидности (ди-, тетра- и гексаploидные), позволяет осуществлять исследования по поиску новых источников ЦМС [88, 90]. За последние десятилетия количество установленных типов ЦМС превысило 60 [90]. Такое разнообразие типов цитоплазм открывает новые направления по созданию эффективных систем ЦМС-*Rf*, отличающихся от классической, созданной на основе цитоплазмы РЕТ1, и внедрению их в гетерозисную селекцию подсолнечника.

В то же время развитие молекулярных технологий позволяет выяснять механизмы взаимодействия митохондриального и ядерного геномов, что приводит к пониманию сущности проявления ЦМС подсолнечника. Так, было показано, что определенная область митохондриального генома, непосредственно связанная с проявлением стерильности, состоит из нескольких генов, продуктом которых является белок с молекулярной массой 16 кДа, встраивающийся в мембраны митохондрий, что приво-

дит к блокированию передачи электронов [71, 83]. Такой механизм и обуславливает проявление ЦМС подсолнечника.

Новый этап исследований в этой области связан с изучением полиморфизма и наследования белков подсолнечника и внедрением полученных результатов с целью идентификации исходного материала (инбредных линий, сортов) и определения уровня гибридности семян F₁ подсолнечника [6, 31, 40, 41].

Разработка ДНК-маркеров открыла новые возможности в генетике подсолнечника, в частности, осуществление маркирования генов *ms* и *Rf*, принимающих участие в контроле ГМС и ЦМС, соответственно [62, 69, 73, 81, 94]. Это стало возможным благодаря построению генетической карты на основе RFLP и SSR маркеров [59, 69, 92]. Тем не менее, сведения о маркировании вышеперечисленных генов, а также генов, контролируемых другими признаками подсолнечника, до сих пор остаются фрагментарными. Следует отметить, что в настоящее время активно ведутся работы по созданию единой интегрированной генетической карты подсолнечника [69].

В связи с этим, целью настоящего обзора явился анализ данных, связанных с вопросами изменчивости, наследования ГМС и ЦМС, индукции стерильности различными факторами и вовлечение стерильности в практическую селекцию подсолнечника.

Индукция мужской стерильности подсолнечника различными факторами

Для большинства видов растений показано влияние различных факторов среды на про-

явление мужской стерильности, подобные эффекты выявлены и для подсолнечника. Особенно четко заметны морфологические изменения у подсолнечника в результате поражения его очень вредоносным заболеванием – ложной мучнистой росой, существенно снижает продуктивность растений. Эти изменения при сильной степени поражении растений проявляются в снижении темпов роста (разница может достигать нескольких раз по сравнению со здоровыми растениями), сдвиге срока начала цветения (пораженные растения зацветают на 3-10 дней раньше) и увеличении продолжительности цветения (до 20 дней), а также затрагивают мужской и женский репродуктивный аппарат. Нарушения проявляются в изменении окраски пыльников от темной до светлой, большая часть пыльцевых зерен шуплая. Такие сильнопораженные растения семян не образуют в отличие от растений, которые имеют слабую степень поражения. Они обладают мужской стерильностью, но способны завязывать небольшое количество семян (до 30 штук на корзинку), при этом морфологически они мало чем отличаются от здоровых растений [1, 36].

В то же время существует надежная система защиты растений подсолнечника от ложной мучнистой росы, прежде всего - генетическая, которая дает положительные результаты при вовлечении эффективных генов в селекционный процесс. Ныне известно 10 генов, обуславливающих устойчивость к различным расам этого патогена [17]. В литературе имеются данные по маркированию некоторых из них, что дает возможность значительно ускорить отбор ценных генотипов [60, 65, 84].

Недавно Я. Демуриным и соавторами у подсолнечника был описан вид стерильности, который индуцируется изменением продолжительности фотопериода, и назван фотопериодической мужской стерильностью [19]. В результате 24-часового фотопериода на протяжении 5 суток авторы работы наблюдали изменения в цветении трубчатых цветков подсолнечника. Эти нарушения заключались в отсутствии тычиночных нитей и, как следствие, не происходил выход пыльниковой трубки с пыльцой из венчика, хотя развитие венчика и пыльников находилось в норме. При этом самоопыления не происходило, т.е. растения были стерильными.

Полученные таким способом мужскостерильные растения авторы использовали в качестве материнского компонента скрещивания для получения гибридных семян. В результате

гибридизации форм с фотопериодической мужской стерильностью и нормальных фертильных растений удалось получить гибридные семена, что указывает на нормальное продуцирование женских гамет. Интересно отметить, что данный тип стерильности по морфологическим изменениям в структуре трубчатого цветка совпадает с М-типом стерильности, который был описан А. Анащенко [2].

Использование химической кастрации с целью выяснения механизма действия гаметоцидов, а впоследствии вовлечение в селекцию полученных таким способом мужскостерильных форм для создания высокоурожайных гибридов основных сельскохозяйственных культур приходится на 60-80 гг. XX столетия [52]. Интерес к этой проблеме не ослабевает и в настоящее время, что, прежде всего, связано с синтезом новых химических веществ различной природы [22]. В результате было показано, что андроец более чувствителен к действию гаметоцидов химической природы, чем гинецей. В качестве гаметоцидов используют разнообразные химические вещества, относящиеся к различным группам соединений (ретарданты, регуляторы роста). На этот же период приходится основные исследования влияния гаметоцидов на стерилизацию пыльцы подсолнечника, в результате которых было показано, что из всех испытанных веществ наиболее эффективным оказался регулятор роста – гиббереллин [1, 54, 55].

Работы, посвященные данной проблеме, можно свести к следующим направлениям:

- подбор эффективной концентрации гиббереллина для получения полностью стерильных растений подсолнечника;

- проявление гаметоцидной стерильности на различных уровнях организации растений подсолнечника.

Подбор оптимальной концентрации гиббереллина для индукции мужской стерильности имеет, пожалуй, решающее значение, поскольку от этого зависит насколько полно удастся получить мужскостерильные формы подсолнечника и не будет ли вызвана стерильность женской репродуктивной сферы. Суть этого подхода заключается в индивидуальном опрыскивании раствором гиббереллина растений подсолнечника, которые находятся в фазе розетки (закладка генеративных органов) при 6-8 парах листьев. На сегодняшний день получены неоднозначные результаты влияния гиббереллина на репродуктивный аппарат подсолнечника.

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Так, в опытах А. Анащенко [1] и П. Чиряева [55] показано, что оптимальной концентрацией гиббереллина, вызывающей 100%-ную стерильность пыльцы подсолнечника, является 0,005%-ный его раствор. Такую концентрацию рекомендуют использовать для сортов, а с целью получения индуцированной мужской стерильности у инбредных линий ее повышают до 0,01%. Однако, по мнению некоторых авторов, проводивших детальные исследования влияния гиббереллина на генеративные органы подсолнечника, получение растений подсолнечника со 100% стерильностью сопряжено с рядом трудностей, связанных со сложностью контроля начала микроспорогенеза, влиянием внешних условий окружающей среды, стерилизацией женской генеративной сферы. Так, в работе [51] выявлен различный гаметоцидный эффект гиббереллина, что позволило авторам выделить три формы мужской стерильности, различающихся изменениями на поздних стадиях прохождения мейоза, а также морфологическими.

По мнению Н. Бочкарева и др. [10], используемые для стерилизации гаметоциды должны, прежде всего, вызывать 100%-ную стерильность мужской репродуктивной сферы с четким морфологическим проявлением по пыльникам и обладать высокой эффективностью в разных климатических зонах и на различных стадиях развития растений.

Полиморфный род *Helianthus* позволяет подробно изучить взаимоотношения между разными видами подсолнечника, начиная от скрещиваемости между ними [43] и заканчивая сходством в последовательностях ДНК [91]. В случае успешного получения межвидовых гибридов подсолнечника дальнейшее использование их в селекции будет зависеть от особенностей развития и, прежде всего, нормального формирования женской и мужской репродуктивной сферы. Однако, как показано многочисленными цитологическими исследованиями межвидовых гибридов, полученных в пределах разных родов растений, в том числе и в роде *Helianthus*, микроспорогенез проходит со значительными нарушениями, что и является основной причиной стерильности гибридов [58, 75]. Исследованиями различных ученых показаны существенные отклонения в прохождении мейоза у межвидовых гибридов в системе скрещиваний типа “однолетний × многолетний”. У таких гибридов наблюдаются нарушения нормального хода мейоза, в результате чего и проявляется стерильность. При этом существенных нарушений в мейозе не наблюдается в

скрещиваниях между собой большинства однолетних видов подсолнечника [32, 58, 75]. Исключение, пожалуй, составляют *H. paradoxus* и *H. praecox*. Так, изучение мейоза у межвидовых гибридов, полученных от скрещивания *H. praecox* с культурным видом подсолнечника показало наличие разнообразных нарушений, достигающих 50%, при этом в скрещиваниях с дикорастущим видом *H. annuus* аберрации составили 7,3% [32]. Показано, что среди характерных нарушений в диакинезе было значительное количество клеток с тетравалентами и гексавалентами, кроме того, на последующих стадиях мейоза были выявлены мосты и отстающие хромосомы, а стадия формирования тетрад была представлена такими аберрациями как монады, диады, триады, пентады, а также клетками с пикнотическими ядрами или с 1-4 микроядрами. Эти результаты позволяют предположить, что изучаемые виды - *H. annuus* (культурный) и *H. praecox*, хотя и относятся к одной таксономической единице, вероятно, имеют значительное количество различий в структуре хромосом, что требует дополнительных исследований с привлечением методов, связанных с дифференциальной окраской хромосом, а также гибридизации *in situ*. Последний метод в настоящее время широко используется в цитогенетических исследованиях злаковых культур [8].

Генная мужская стерильность

Многими авторами было установлено, что ГМС у подсолнечника контролируется как моногенный признак с расщеплением во втором поколении на два фенотипических класса в соотношении 3:1 [17, 38, 44]. Ген, контролирующий мужскую стерильность, предложено было обозначить как *ms*. На первых этапах изучения ядерной мужской стерильности выявили 5 генов *ms*: *ms1-ms5* (цит. по [17]). Позже, с применением химических мутагенов, удалось индуцировать мужскую стерильность, которая контролировалась генами *ms6-ms9* [74]. У линий В11А3 и Р-21VR1 идентифицированы гены *ms10* и *ms11*, соответственно [75].

При изучении ГМС подсолнечника также выявлено дигенное наследование с взаимодействием генов по принципу рецессивного эпистаза и комплементарное взаимодействие [17]. Ф. Виличку при анализе образца подсолнечника французского происхождения выявил еще один ген ГМС, который им был обозначен как *msk* [15].

Этот тип стерильности нашел широкое практическое применение для создания первых отечественных гибридов в бывшем СССР и Румынии. Такой подход стал возможным благодаря обнаружению тесного сцепления между генами, контролирующими антоциановую окраску стебля и ГМС. Антоциановая окраска у подсолнечника контролируется геном *T* [17]. Процент рекомбинации между этими генами составляет 1,3 сМ. Для получения гибридных семян необходимо иметь формы со следующими генотипами: стерильные гомозиготные по генам *ttmsms* и фертильные гетерозиготные по генам *TtMsms*. Скрещивание форм с такими генотипами давало в первом поколении расщепление 1:1. Все растения с антоциановой окраской удаляли с участка гибридизации до цветения, оставляя только зеленые стерильные формы. В результате опыления стерильных форм пылью отцовской формы удавалось получать гибридные семена будущих гетерозисных гибридов. Однако этот метод имеет существенный недостаток – большие затраты ручного труда, в связи с чем сейчас он не применяется в производстве.

В настоящее время использование различных молекулярных подходов позволило локализовать гены *ms* относительно маркеров. Используя маркеры трех типов – RFLP, SSR и INDEL удалось выявить, что, во-первых, гены антоциановой окраски и ГМС расположены на расстоянии менее 1 сМ и, во-вторых, дистанция между микросателлитными локусами MS925 и ORS536 и геном *ms11* составляет 3,8 и 4,1 сМ, соответственно [94].

Другой ген – *ms9*, контролирующей ГМС, также был маркирован с применением TRAP и SSR технологий. В результате исследований было установлено сцепление с изучаемым геном 4-х TRAP маркеров. Расстояние между геном *ms9* и маркерами варьировало от 1,2 до 22,3 сМ. С использованием праймеров к известным микросателлитным последовательностям удалось локализовать этот ген в 10 группе сцепления на расстоянии 1,2 сМ от выявленного SSR-локуса [62].

Цитоплазматическая мужская стерильность

ЦМС описана для многих видов высших растений, и их сегодня насчитывается свыше 300 [56]. Многочисленными работами зарубежных и отечественных авторов была показана роль цитоплазмы в наследовании признаков на

всех уровнях организации: от молекулярного до популяционного в непосредственной связи плазмона и ядерных генов [18]. Изучение системы плазмон – геном позволяет решать ряд задач, связанных с детерминацией структурной организации клеток, тканей и органов в ходе морфогенеза растений [34].

Исследование ЦМС имеет не только теоретическое значение, но и практическое, поскольку данное биологическое явление активно используется в селекционной практике многих сельскохозяйственных растений для получения гибридов первого поколения. Преимущество гибридов, созданных на основе ЦМС, по сравнению с сортами, прежде всего, связано с гетерозисным эффектом и коммерческой выгодой (нецелесообразность дальнейшего семенного размножения гибридов в связи с затуханием гетерозиса). Использование генетической системы ЦМС-*Rf* в практической селекции привело к созданию коммерческих гетерозисных гибридов кукурузы, ржи, подсолнечника, овощных культур.

Создание современных высокопродуктивных гибридов подсолнечника связано именно с использованием явления ЦМС. В последнее время исследования в области генетической системы ЦМС-*Rf* подсолнечника ведутся по следующим основным направлениям: поиск и сравнение источников ЦМС, а также генов восстановления фертильности пыльцы (*Rf*); маркирование этих генов и практическое использование разных систем ЦМС-*Rf* в селекции подсолнечника.

Впервые ЦМС у подсолнечника была открыта П. Леклерком в конце 60-х годов XX-го столетия при скрещивании дикорастущего вида *H. petiolaris* с культурным – *H. annuus* [80] и с этого момента начинается активное изучение генетической системы ЦМС – *Rf* у подсолнечника. Ныне известно свыше 60 источников ЦМС, из которых основными являются дикорастущие виды рода *Helianthus*. Однако из большого разнообразия дикорастущих видов подсолнечника только у 12 удалось выделить различные источники ЦМС [90]. Наибольшее их количество (31) было обнаружено у дикорастущего вида *H. annuus*, 7 источников выделено из *H. petiolaris*, 5 – из *H. praecox*, 4 – из *H. argophyllus* и по 2 – из *H. exilis* и *H. maximiliani*. Все эти виды характеризуются однолетним типом развития и относятся к секции *helianthus*. Остальная небольшая часть ЦМС источников выделена из многолетних видов, относящихся к

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

секции *divaricati*: *H. rigidus*, *H. maximiliani*, *H. giganteus*, *H. mollis*, *H. resinusus*, *H. strumosus*.

Наиболее интенсивно работы по поиску новых источников ЦМС подсолнечника ведутся исследователями США, Болгарии, Франции, Германии. Все известные типы ЦМС были получены либо спонтанно, либо выделены из различных гибридных комбинаций в разных поколениях [90]. Авторами работы также выделено 4 ранее не идентифицированных источника ЦМС из растительного материала декоративно-го направления [53].

Вовлечение в селекционный процесс разных образцов, несущих стерильную цитоплазму, немыслимо без восстановителей фертильности пыльцы, которые и служат тестерами на определенный тип цитоплазмы. Наибольшее их количество идентифицировано для классической цитоплазмы – РЕТ1 и создание нового линейного материала, несущего гены *Rf* к этой цитоплазме, не представляется проблематичным по сравнению с другими типами ЦМС. Большинство известных коммерческих линий являются восстановителями фертильности пыльцы.

В некоторых селекционных учреждениях Украины начаты исследования по идентификации генов *Rf* к другим типам цитоплазм. Сегодня они ведутся в Институте масличных культур (ИМК) и Институте растениеводства им. В.Я. Юрьева (ИР). Так, в исследованиях А. Чепурной и А. Першина [50] были выделены формы ЦМС при отдаленной гибридизации и для восстановления разных типов цитоплазм взяты уже известные источники восстановления фертильности пыльцы. Установлены разнонаправленные эффекты восстановления фертильности в различных системах ЦМС-*Rf*. Авторами на основе выделенных источников ЦМС создаются коммерческие стерильные аналоги линий.

Нами была показана различная способность образцов подсолнечника восстанавливать фертильность пыльцы у форм, несущих классическую цитоплазму (РЕТ1), а также цитоплазмы МАХ1 и ГИГ1. Тест на восстановительную способность 10 межвидовых гибридов (созданы с участием *H. annuus*, *H. argophyllus*, *H. debilis*, *H. petiolaris*) при их скрещивании с ЦМС-РЕТ1 показал, что уровень восстановления фертильности колебался от 0 до 100%, т.е. в некоторых гибридных комбинациях либо не происходило, либо наблюдалось частичное или полное восстановление фертильности пыльцы.

Восстановительная способность некоторых образцов трех разных цитоплазм выявило взаимодействия между ядерными генами и плазмогенами, что проявлялось в разной способности этих форм восстанавливать фертильность пыльцы. Также были обнаружены и разнонаправленные эффекты, например, образец МВГЗ полностью восстанавливал фертильность у стерильного аналога на основе РЕТ1 и частично для ГИГ1 и МАХ1 [49].

В литературных источниках недостаточна информация о влиянии различных типов стерильности подсолнечника (ГМС и ЦМС – РЕТ1) на микроспорогенез и развитие пыльников. Сообщается о наличии разнонаправленных эффектов, которые проявляются на гаметофитном уровне в случае ГМС и на спорофитном при ЦМС [48]. В целом результаты исследований в этом направлении остаются довольно фрагментарными. В связи с этим целесообразно проводить цитозембриологическое изучение мужскостерильных форм и восстановителей фертильности пыльцы в зависимости от типа цитоплазмы с целью изучения их влияния на характер формирования пыльника. Так, например, известно, что у линий, созданных на основе цитоплазмы RES1 вида *H. resinusus*, мейоз проходит нормально и нарушения проявляются только при формировании пыльника, т.е. на спорофитном уровне [66]. Подобные цитозембриологические исследования довольно широко применяются для других сельскохозяйственных культур (кукуруза, пшеница, лук) [33].

Полиморфизм цитоплазм в роде *Helianthus* открывает множество направлений исследований в изучении формирования и выраженности хозяйственно ценных признаков. При вовлечении различных типов цитоплазм в селекционный процесс по созданию коммерческих линий, а на их основе, в свою очередь, гетерозисных гибридов подсолнечника, важно знать какая из цитоплазм вызывает положительный или отрицательный эффект на проявление агрономических признаков. Такие данные для подсолнечника имеются, но они не многочисленны и фрагментарны. Так, известно, что некоторые из изученных цитоплазм вызывают, как правило, отрицательное действие на проявление биологических и хозяйственных признаков или незначительны в своем действии на них. Например, при сравнительном изучении классической цитоплазмы РЕТ1 с РЕТ4 и АРГ3 выявлено, что продуктивность растений выше у форм, несущих РЕТ1, чем у образцов, созданных на основе двух последних цитоплазм [90].

Цитоплазмы ANN1, ANN2, PET2 и PEF1 увеличивают высоту растений; ANL2, ANN1, ANN4, ANO1, BOL1, MAX1 и PEF1 сдвигают начало цветения на более поздние сроки, а некоторые из них (ANL2, PET2 и PEF1) оказывают отрицательное влияние на содержание масла в семенах подсолнечника. Все эти факты необходимо учитывать в гетерозисной селекции подсолнечника, особенно при создании исходного материала на основе межвидовых гибридов.

В одной из работ показана различная способность к регенерации *in vitro* образцов подсолнечника в зависимости от того, какую цитоплазму они несут: нормальную или стерильную [85].

Молекулярная организация. Для большинства сельскохозяйственных культур изучены молекулярные механизмы взаимодействия ядерного и митохондриального геномов и показано наличие у ЦМС-форм химерных генов, которые образуются в результате реорганизации митохондриального генома. Отличие в структуре митохондриальной ДНК (мтДНК) стерильных форм от фертильных дает возможность идентифицировать и локализовать ЦМС-локусы в митохондриальном геноме и изучить их молекулярную структуру [18, 56, 89].

Согласно последним данным, полученным на основе рестрикционного анализа митохондриального генома стерильных форм подсолнечника, имеется область ДНК размером 17 т.п.н, для которой характерно наличие инверсии (12 т.п.н.) и вставки 5 т.п.н., фланкированные инвертированными повторами размером в 261 п.н. В свою очередь инсерция размером 5 т.п.н. состоит из открытой рамки считывания – *orf522*, к которой примыкает ген *atpA* [79]. Транскрипция этих участков происходит совместно, а продуктом этих генов является белок с молекулярной массой 16 кДа. Белок с такой же молекулярной массой выявлен М. Дуккой и др. [20] при изучении стерильных форм подсолнечника, а у фертильных линий он отсутствовал. Предполагается, что данный белок блокирует цепь транспорта электронов путем его встраивания в мембраны митохондрий [71, 83]. Такое строение мтДНК стерильных аналогов и обуславливает их отличие от фертильных форм подсолнечника.

Одна из последних работ по изучению митохондриального генома подсолнечника, который был представлен 28 источниками ЦМС, показывает сходство многих из них. Изучение

различных областей митохондриального генома (9-ти митохондриальных генов *atp6*, *atp9*, *cob*, *cox1*, *cox2*, *cox3*, *18S*, *5S*, *nd5* и 3-х открытых рамок считывания – *orfH522*, *orfH708*, *orfH873*) с помощью блот-гибридизации позволило выделить 10 основных митохондриальных типов [72]. В каждый выделенный тип входят от 2 до 4 ЦМС источников. При этом некоторые источники ЦМС не вошли ни в одну из представленных групп, показав уникальные гибридационные сигналы по определенным митохондриальным генам. Эти результаты указывают на уникальность строения некоторых цитоплазм подсолнечника и сложность их организации.

Имеющиеся данные об эффектах взаимодействия ядерных генов-восстановителей (*Rf*) с митохондриальными генами предполагают два механизма их работы. Первый заключается в том, что наличие генов *Rf* в ядерном геноме вызывает блокирование экспрессии митохондриального гена или активности его продукта. А второй механизм основывается на восстановлении нормальной экспрессии генов, которые вследствие реорганизации генома были изменены [18]. Для подсолнечника характерен первый тип эффекта ядерных генов, т.е. они действуют на посттранскрипционном уровне. Так, авторами работы показано [83], что количество транскриптов остается постоянным в стерильных линиях и линиях восстановителей, а количество синтезируемого белка различается, при этом отмечена также тканеспецифичность действия *Rf*-генов: эффект ядерных генов выявлен только в тканях пыльников подсолнечника.

Следует отметить, что наличие в литературе информации об определенных механизмах действия *Rf*-генов еще не раскрывает полной картины взаимодействия генома и плазмона подсолнечника. В первую очередь это обусловлено существованием большого количества различных типов ЦМС у подсолнечника и известных к ним генов восстановителей, а эффект определенного ядерного гена необходимо рассматривать непосредственно при взаимодействии его с конкретным типом цитоплазмы.

Дальнейшие исследования, раскрывающие молекулярную организацию системы ЦМС-*Rf* подсолнечника, вероятно, приблизят ученых к пониманию механизмов взаимодействия плазмона и ядерного генома, а в практической селекции позволят вести целенаправленный подбор пар в системе цитоплазма - гены *Rf*.

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

Генетический контроль и картирование генов Rf. Подробно изучением генетики восстановления фертильности пыльцы занимались авторы работ [3-5, 64]. В результате их исследований было выяснено, что данный признак может иметь моногенный, дигенный или тригенный контроль с различными типами взаимодействия. В литературе имеется работа, в которой показано наличие четырех генов, контролирующих восстановление фертильности пыльцы [64]. Эти гены необходимо рассматривать в непосредственной связи с различными типами ЦМС подсолнечника, поскольку они будут иметь неодинаковые эффекты по восстановительной способности.

В связи с наличием в настоящее время генетических карт подсолнечника, построенных на основе различных типов маркеров (RFLP, SSR), интерес исследователей направлен на картирование генов *Rf*.

Первая генетическая карта у подсолнечника была построена на основе RFLP-маркеров [59, 69] и через 10 лет в литературе появилась информация о разработке микросателлитных маркерных систем, которые распределились по 17 группам сцепления, что соответствует основному числу хромосом подсолнечника [92]. В дальнейшем, эти исследования подтолкнули ученых к вовлечению ДНК-маркеров для картирования генов *Rf* подсолнечника. Из всех известных генов восстановления фертильности подсолнечника работы по их маркированию посвящены только гену *Rf_i*.

С разработкой генетической карты на основе RFLP-анализа удалось выявить тесное сцепление с одним из RFLP локусов и геном *Rf_i*. Расстояние между ними составило всего 1 сМ [69].

В исследования по генетике растений широко вовлекается метод, позволяющий в отсутствие информации о первичной структуре ДНК легко анализировать геном сельскохозяйственных культур. Этот подход получил название случайной амплификации полиморфных последовательностей ДНК (RAPD-анализ). Вовлечение 31-го произвольного праймера у подсолнечника дало возможность идентифицировать 61 ампликон. Генетический анализ позволил обнаружить сцепление только одного RAPD-локуса и гена *Rf_i* с расстоянием между ними 18 сМ [81].

В работе [73] также было установлено тесное сцепление между локусами, выявляемыми декамерными праймерами (OP-K13_454 и OP-

Y10_740) и геном восстановления фертильности. Расстояние между ними составило 0,9 и 2,2 сМ, соответственно. В этой же работе вовлечение AFLP-системы помогло идентифицировать три таких маркера на расстоянии 0,7, 0,1 и 0,2 сМ от гена *Rf_i*. На основе тесно сцепленных маркерных систем были разработаны SCAR-маркеры, которые фланкировали ген восстановления фертильности. Такой подход позволил вовлечь их в маркер-зависимую селекцию подсолнечника для скрининга коллекционного материала на наличие определенных маркированных генов. Эти же авторы показали прогнозирующую способность маркеров на разном по происхождению материале подсолнечника, включающем и другие типы цитоплазм.

Построение генетической карты на основе микросателлитных локусов дало возможность С. Тенгу установить, что ген *Rf_i* расположен в 13 группе сцепления [92].

Идентификация исходного материала и определение уровня гибридности семян подсолнечника. В настоящее время для получения гетерозисных гибридов подсолнечника на основе ЦМС необходимо иметь коллекцию инбредных линий трех типов, генотипы которых с учетом цитоплазмы можно записать следующим образом:

- 1) Цит^S*r_ir_if* - материнская форма (стерильный аналог) с мужской стерильностью, т.е. растения без пыльцы или с бесплодной пыльцой;
- 2) Цит^N*r_ir_if* - закрепитель стерильности, т.е. растения, имеющие нормальную цитоплазму и, соответственно, продуцирующие пыльцу;
- 3) Цит^N*R_fR_f* или Цит^S*R_fR_f* - отцовская форма (восстановитель фертильности), способная восстанавливать фертильность стерильных материнских растений.

Подробно вопросы создания этих линий и предъявляемые к ним требования изложены в работе [24].

Современным направлением в селекции подсолнечника является создание исходного материала с измененным составом масла [21, 24]. Определенные успехи в этом направлении достигнуты зарубежными и отечественными исследователями. Так, в Украине созданы первые высокоолеиновые гибриды [23-25] и первый пальмитиновый гибрид Капрал с содержанием этой кислоты около 25%. Для усиления антиоксидантных свойств масла подсолнечника вводят эффективные гены токоферолов. На се-

годняшний день известно два таких гена – *tph1* и *tph2*, которые в зависимости от их состояния контролируют α , β , γ и Δ формы токоферола [17]. Имеются данные о маркировании генов, контролирующих вышеперечисленные признаки состава подсолнечного масла, содержание масла в семенах и активность ключевых ферментов, участвующих в синтезе триглицеридов, что повысит результативность селекционного процесса в этом направлении [68, 77, 82, 93].

Идентификацию исходного материала можно проводить по различным маркерным системам: морфологические признаки [14], биохимические [6, 11] и молекулярные маркеры [45, 46]. Для регистрации растительных ресурсов подсолнечника нашли широкое применение все выше перечисленные маркерные системы. Так, например, разнообразие по морфологическим признакам у подсолнечника довольно велико [14], что позволяет селекционеру использовать их для маркирования хозяйственно ценных признаков, проводить идентификацию исходного материала. Однако, следует отметить, что большее применение для этой культуры нашли именно биохимические и молекулярные маркеры, прежде всего, в силу высокого уровня полиморфизма и стабильности проявления.

Использование маркерных систем в биологии началось с работ, показавших высокий уровень полиморфизма по различным типам белков. Большое значение для выявления биохимической наследственной изменчивости сыграло развитие метода электрофореза в крахмальном и полиакриламидном гелях [16].

Новые возможности в изучении наследственной информации открылись с разработкой молекулярных методов, позволяющих изучать полиморфизм на уровне ДНК. К таким методам относятся Саузерн-блот-гибридизация и полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Различные маркерные системы широко используются для идентификации и регистрации растительного материала, а также определения уровня гибридности семян гибридов, полученных в промышленном семеноводстве.

Для подсолнечника разработаны следующие биохимические и молекулярные маркерные системы: запасной белок – гелиантинин, изоферменты и ДНК-маркеры (RFLP, RAPD, SSR и др.). Каждая из этих систем в той или иной мере применяется для решения практических задач селекции и семеноводства. Следует отметить, что к любой маркерной системе предъявляются следующие требования: отсут-

ствие модификационной изменчивости, кодоминантный тип наследования, легкость интерпретации результатов, простота проведения анализов и их относительная дешевизна. Естественно, что в силу различной природы и методов проведения анализов сложно подобрать такую маркерную систему, которая бы отвечала всем выше перечисленным требованиям.

Белковые маркеры. Подробным изучением изменчивости и наследования запасного белка подсолнечника – гелиантинина занимались в Селекционно-генетическом институте (СГИ) и Всероссийском институте растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР). Ф. Попереля [39], а впоследствии И. Анисимова [7] установили генетический контроль гелиантинина и показали различное количество локусов, ответственных за синтез полипептидов этого белка. Результаты, полученные этими авторами, противоречивы, т.к. они выделяют разное количество локусов гелиантинина у подсолнечника. Так, Ф. Попереля показал наличие 6 гелиантинин-кодирующих локусов – *Hell-Hel6*, три из которых выявили сцепленное наследование – *Hell*, *Hel4* и *Hel6*. В то же время И. Анисимова выделяет только три локуса (*HelA*, *HelB*, *HelC*), которые контролируют различное количество полипептидов: 2 для первых двух локусов и 4 для последнего. Автор установила сцепленное наследование локусов *HelB* и *HelC*. Несоответствие данных по количеству локусов гелиантинина, по-видимому, связано с тем, что автор работы [7] не вовлекала в анализ минорные компоненты этого белка. Сопоставляя результаты анализа сцепления генов, можно предположить, что локусы *HelB* и *HelC*, описанные И. Анисимовой идентичны *Hell* и *Hel6*, выявленным в работе [39]. Для окончательного заключения о количестве генов, кодирующих гелиантинин, необходимо использование разделения белка по единой методике и осуществление специальных скрещиваний.

Белковые маркеры нашли широкое применение в ВИРе им. Н.И.Вавилова, Всероссийском институте масличных культур им. В.С. Пустовойта (ВНИИМК), СГИ и ИМК для идентификации исходного материала подсолнечника – сортов-популяций, инбредных линий с последующим анализом гибридности семян первого поколения.

Наиболее полная концепция определения гибридности подсолнечника описана в работе [40]. Автором было рассмотрено несколько возможных случаев, которые могут встречаться на участках гибридизации при получении гиб-

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

ридных семян подсолнечника. Первый случай связан с наличием 100%-ной гибридности. Проявляется он сочетанием у гибридных семян компонентов белка обеих родительских форм, что свидетельствует о 100%-ной гомогенности исходных линий по гелиантину. Второй случай обуславливает присутствие одновременно гибридного спектра, а также компонентов, характерных для материнской инбредной линии. Третий случай – это появление спектров трех типов: гибридный спектр и спектры, характерные для материнской и отцовской линий. По нашему мнению, качество семян будет зависеть не только от чистоты родительских линий, которые используются при получении гибридных семян коммерческого гибрида, в том числе и от закрепителя стерильности, но и других факторов. Например, на качество семян влияет несоблюдение пространственной изоляции при размножении родительских линий, получении гибридных семян на участках гибридизации, а также невозможность контролировать опылителей. Эти факторы могут приводить к привнесению чужеродной пыльцы с других посевов.

В настоящее время единственным методом, на основе которого определяют качество полученных гибридных семян, является грунт-контроль. Суть этого метода заключается в проведении анализов либо в полевых условиях (при этом результат о типичности гибридов или линий получают на следующий год), либо в искусственных условиях (в теплицах). Все это приводит к определенным затратам времени, труда и материальных средств. Более простым и быстрым методом определения уровня гибридности семян F_1 , по нашему мнению, является электрофорез биологических макромолекул. О надежности применения электрофореза гелиантина можно судить по сравнительному анализу с грунт-контролем. Такие данные были получены Ф. Поперелей [40] и М. Малаховой с А. Першиным [31]. Этими авторами была показана существенная разница между результатами тестирования различных методов и отдан приоритет определения гибридности семян на основе электрофореза гелиантина. Следует отметить, что оба метода (электрофорез гелиантина и грунт-контроль) показывают высокодостоверные и идентичные результаты при высоком качестве семян, а при низком - наблюдается увеличение разницы по относительному показателю гибридности. Максимальная разница между результатами, полученными этими методами достигала 32,9%, что является доста-

точно весомым аргументом в пользу электрофореза гелиантина.

Другой тип белковых маркеров – изоферменты – также привлекает внимание исследователей для изучения их наследования и вовлечения в селекцию и семеноводство подсолнечника [11, 41].

Большинство авторов, изучая внутри- и межвидовую изменчивость изоферментных систем у образцов подсолнечника, показали, что по ферментным генам выявлено не более трёх аллелей на один ген [61, 30]. Генетический контроль некоторых ферментных систем (эстераза, 6-фосфофруктоза-6-дегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, малик-энзим и др.) изучен достаточно хорошо в работах [12, 30, 57, 76, 78]. Изоферментные системы можно использовать для идентификации растительных ресурсов подсолнечника в качестве альтернативного подхода или как дополнительный в случае идентичности исходных родительских линий по гелиантину. Такие исследования ведутся во ВНИИМК им. В.С. Пустовойта и ИР им. В.Я.Юрьева. Некоторые изоферментные системы применяются для определения гибридности семян простых гибридов подсолнечника. Результаты проведенных анализов в ИР им. В.Я. Юрьева по определению гибридности семян, полученных на участках гибридизации в промышленных условиях с применением ферментных систем, показали варьирование показателя в широких пределах: от 63 до 94% [41].

ДНК-маркеры. Для изучения изменчивости исходного материала подсолнечника широко используется амплификация ДНК с произвольными праймерами (RAPD-анализ). Многими авторами показан высокий уровень полиморфизма и дифференцирующая способность этого метода при изучении сходства между инбредными линиями подсолнечника [42, 47, 87].

Преимуществом RAPD-анализа является простота постановки исследований, что немаловажно при анализе большого количества образцов, однако большинство ампликонов наследуются по доминантному типу. Редко встречается наследование по кодоминантному типу, что очень важно при проведении анализов на гибридность. В некоторых работах показано, что продукты амплификации ДНК у растений отклоняются от нормального типа наследования [26, 63, 70]. Эти отклонения заключаются в появлении нехарактерных для родительских линий полос у гибридов или в отсутствии у гибридов определенных родительских полос.

Как отмечает М. Хеун [70], такое наследование может быть связано с предпочтением определенных участков генома при отжиге праймеров при проведении ПЦР. Естественно, можно сделать вывод, что такая система маркеров не совсем подходит для определения гибридности семян подсолнечника из-за сложности интерпретации электрофоретических спектров и доминантного характера наследования.

По мнению многих авторов, надежным методом для идентификации генотипов подсолнечника является анализ полиморфизма микросателлитных последовательностей с помощью SSR-ПЦР. Так, например, авторами работы [50] изучена изменчивость инбредных линий подсолнечника, созданных в трех институтах Украины (СГИ, ИП, ИМК). Ими было показано, что аллельные варианты по 8 SSR-локусам из 14, вовлеченных в исследование, являются уникальными для каждого генотипа. Эти же авторы, продолжая исследования [45], составили паспорт для каждого изучаемого генотипа по разработанной методике, которая была ранее апробирована на других культурах [13, 27]. Формула генотипа на основе SSR-анализа записывается в виде латинской буквы с индексом, который указывает на размер в парах нуклеотидов аллеля определенного микросателлитного локуса, например, $A_{235}B_{217}C_{226}D_{157}E_{204}F_{212}G_{168}H_{183}I_{199}J_{153}K_{150}L_{232}M_{135}N_{166}O_{231}P_{253}$ [45].

Для подсолнечника пока что нет информации о применении различных ДНК-маркеров в практическом семеноводстве, но теоретические предпосылки имеются. Это рассмотренные выше работы по изменчивости и составлению паспортов генотипов подсолнечника. При вовлечении их для определения гибридности партии семян, полученных на участках гибридизации, также как и для других типов маркеров (биохимические), необходимо знать особенности наследования продуктов амплификации.

При использовании ДНК-маркеров в селекции и семеноводстве необходимо, как отмечалось выше, чтобы они соответствовали ряду требований: простота проведения анализов, четкость проявления продуктов амплификации, кодоминантный тип наследования и относительная дешевизна. Таким требованиям в большей степени отвечает SSR-анализ.

По сравнению с RAPD-анализом, SSR имеет ряд преимуществ, которые заключаются в кодоминантном наследовании локусов у гибридов, полученных при скрещиваниях, отлича-

ющихся по микросателлитным локусам родительских линий, а также в более четком проявлении продуктов амплификации и высокой воспроизводимости результатов. Для подсолнечника и кукурузы, у которых в селекции используют эффект гетерозиса и в производстве в основном выращивают гибриды, разработаны теоретические подходы для определения гибридности простых гибридов: идентифицированы генотипы исходных родительских линий и гибридов между ними [26, 45]. Но для окончательного внедрения такого подхода необходимо проведение сравнительной характеристики основного метода определения гибридности – грунт-контроля и альтернативного – SSR-анализа. При этом в анализ необходимо вовлекать гибриды, полученные в промышленном семеноводстве в разных агроэкологических зонах с предварительным исследованием родительских линий этих гибридов с участков размножения. Только тогда, по нашему мнению, можно судить о преимуществах или недостатках существующих методов определения гибридности семян.

Заключение

С момента первого описания мужской стерильности у подсолнечника прошло более 70 лет и за этот период в данной области достигнуты определенные успехи. Открытие П. Леклерком ЦМС у подсолнечника дало толчок к исследованиям этого биологического феномена на разных уровнях организации: начиная от морфологических особенностей андроцея и заканчивая взаимодействием плазмона и генома.

Ныне уже идентифицированы гены, которые обуславливают контроль ГМС и ЦМС, более того, активно проводятся исследования по их маркированию и установлению группы сцепления относительно различных маркерных систем, что, в свою очередь, позволит оптимизировать трудоемкий селекционный процесс. С помощью биохимических и молекулярных маркеров проводится идентификация исходного материала и определяется уровень гибридности семян подсолнечника, что позволяет защитить авторские права и контролировать качество полученных семян.

Выявленный полиморфизм цитоплазм в роде *Helianthus* открыл новые возможности в селекции этой культуры, тем самым расширив генетическое разнообразие исходного материала. На основе идентифицированных источников ЦМС можно создавать принципиально новый

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

селекционный материал и практические результаты в этом направлении уже имеются.

Из всех известных типов мужской стерильности подсолнечника широкое внедрение в селекционно-семеноводческую практику получила только ЦМС, как наиболее эффективный способ достижения желаемого результата – гетерозисного эффекта. Именно использование ЦМС позволило получить огромный экономический эффект, благодаря созданию высокогетерозисных гибридов подсолнечника различного назначения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анащенко А.В. Мужская стерильность модификационного характера у подсолнечника // С.-х. биология. – 1968. – Т. 3, № 4. – С. 544-549.
2. Анащенко А.В. Изучение мужской стерильности у подсолнечника // Тр. по прикл. ботанике, генетике и селекции. – 1972. – Т. 46, вып. 3. – С. 120-131.
3. Анащенко А.В., Дука М.В. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. II. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМСр // Генетика. – 1985. – Т. 21, № 12. – С. 1999-2004.
4. Анащенко А.В., Дука М.В. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. III. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМС₁ // Генетика. – 1985. – Т. 21, № 12. – С. 2005 – 2010.
5. Анащенко А.В., Кукош М.В. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). Сообщ. I. Восстановительная способность образцов подсолнечника в разных типах ЦМС // Генетика. – 1985. – Т. 21, № 5. – С. 803-808.
6. Анисимова И.Н. Белки семян в геномном анализе и идентификация сортов, линий и гибридов подсолнечника // Молекулярно-биологические аспекты прикладной ботаники, генетики и селекции. – М.: Колос, 1993. – С. 287-314.
7. Анисимова И.Н. Запасные белки семян подсолнечника: гетерогенность, полиморфизм, генетический контроль: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. – СПб., 1999. – 39 с.
8. Антонюк М.З., Терновская Т.К. Использование геномной *in situ* гибридизации для цитогенетического изучения мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. и ее сородичей // Цитология и генетика. – 2001. – №2. – С. 67-76.
9. Бородин С.Г. Селекция сортов подсолнечника специального назначения // Сб. науч. трудов ВНИИМК. Материалы Междунар. конф., посвященной 90-летию ВНИИМК. – Краснодар, 2003. – С. 15-25.
10. Бочкарев Н.И., Цухло Л.Г. Мужская стерильность // Биология, селекция и возделывание подсолнечника. – М.: Агропромиздат, 1992. – С. 49-52.
11. Бочковой А.Д., Савченко В.Д. Эффективность различных методов анализа генетической чистоты гибридов подсолнечника и их родительских форм // Масличные культуры НТБ ВНИИМК. – 2002. – Вып. 126. – С. 3-8.
12. Боровкова И.Г., Лоскутов А.В., Толмачев В.В. Анализ наследования и сцепления локусов, кодирующих морфологические признаки и изоферменты у подсолнечника *Helianthus annuus* L. // Генетика. 1991. – Т. 27, № 10. – С. 1773-1780.
13. Брик А.Ф., Сиволап Ю.М. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация сортов сои (*Glycine max* L.) // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 9. – С. 1266-1273.
14. Ведмедєва К.В. Створення колекції джерел морфологічних маркерних ознак соняшнику і вивчення їх генетичного контролю: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Одеса, 2004. – 16 с.
15. Виличку Ф.К. Генетическое изучение нового типа генной мужской стерильности у подсолнечника // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1989. – Т. 125. – С. 79-81.
16. Гааль Э., Медьєши Г., Верецьки Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул. – М.: Мир, 1982. – 447 с.
17. Гаврилова В.А., Анисимова И.Н. Генетика культурных растений. Подсолнечник. – СПб., 2003. – 204 с.
18. Даниленко Н.Г., Давыденко О.Г. Миры геномов органелл. – Минск: Тэхналогія, 2003. – 496 с.
19. Демурин Я.Н., Перетягина Т.М., Борисенко О.М. Фотопериодическая мужская стерильность в гибридизации подсолнечника // Масличные культуры НТБ ВНИИМК. – 2005. – Вып. 2 (133). – С. 12-18.
20. Дука М.В., Поликарпова Ю.В. Поиск белковых маркеров для генетической системы ЦМС-Rf подсолнечника // Физиология растений. – 2004. – Т. 51, № 5. – С. 698-701.

ПОПОВ, КИРИЧЕНКО

21. *Ефименко С.Г.* Использование мутаций состава токоферолов и жирных кислот в селекции подсолнечника на качество масла: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Краснодар, 2003. – 26 с.
22. *Ивченко Т.В.* Біотехнологічні та фізіологічні методи в селекції цибулі ріпчастої (*A. cepa* L.) // Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. - Харків, 2003. – 19 с.
23. *Каталог* нових сортів та гібридів селекційно-генетичного інституту. – Одеса, 2005. – 127 с.
24. *Кириченко В.В.* Селекция и семеноводство подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). - Харьков, 2005. – 388 с.
25. *Кириченко В.В., Макляк К.М., Попов В.М., Сивенко В.І. та ін.* Використання наукових досліджень в селекції та насінництві соняшнику // Селекція та насінництво. – 2004. - Вип. 89. – С. 3-13.
26. *Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М., Вареник Б.Ф.* Определение «гибридности» простых гибридов кукурузы методом SSR-ПЦР // Цитология и генетика. – 2001. – Т. 35, № 2. – С. 43-48.
27. *Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М.* Идентификация и регистрация генотипов кукурузы при помощи молекулярных маркеров // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 1. – С. 59-66.
28. *Кожухова Н.Э., Солоденко А.Е., Сиволап Ю.М.* Наследование продуктов амплификации ДНК F₁-гибридов у кукурузы и подсолнечника // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 4. – С. 26-30.
29. *Константинова Л.Н.* Цитологические нарушения развития пыльников при гаметоцидной мужской стерильности у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 1980. – Т. 67. - Вып. 3. – С. 134-140.
30. *Лоскутов А.В.* Изоферментные системы в гибридологическом анализе подсолнечника: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 1993. 21 с.
31. *Малахова М.С., Першин А.Ф.* Соответствие результатов оценки генетической однородности семян подсолнечника методами грунтоконтроля и электрофореза запасных белков // 36. наук. пр. Ін-ту олійн. культур. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 4. – С.7-13.
32. *Нестерова О.В., Юшкіна Л.Л., Долгова Т.А., Попов В.М.* Цитогенетичне вивчення міжвидових гібридів F₁ та BC₁ роду *Helianthus* // Стрес і адаптація рослин: фізіологія, біохімія, генетика. Матеріали семінару молодих учених, аспірантів і студентів. – Харків, 2005. - С. 68-69.
33. *Орел Л.И.* Цитология мужской цитоплазматической стерильности кукурузы и других культурных растений. - Л.: Наука, 1972. – 84 с.
34. *Орлов П.А.* Взаимодействие ядерных и цитоплазматических генов в детерминации развития растений. - Минск, 2001. – 170 с.
35. *Першина І. М.* Генетична база селекції декоративного соняшнику: Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук. - Запоріжжя, 2000. – 14 с.
36. *Петренко В.П., Кривошеєва О.В., Маркова Т.Ю., Боровська І.Ю.* Хвороби та шкідники соняшнику. - Харків, 2005. – 41 с.
37. *Погорлецкий Б.К.* Генетическое маркирование мужской стерильности подсолнечника // Генетика. – 1973. – Т. 9, № 5. – С. 23-29.
38. *Погорлецкий Б.К., Бурлов В.В.* О наследовании мужской стерильности у подсолнечника // Там же. – 1971. – Т. 7, № 8. – С. 59.
39. *Попереля Ф.А., Нецветаев В.П.* Генетический контроль гелиантинина семян у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) // Цитология и генетика. – 1994. – Т. 28, № 4. – С. 59-63.
40. *Попереля Ф.О.* Генетична інтерпретація електрфореграм геліантинину насіння F₁ соняшника // Там же. – 2000. – Т. 36, № 2 – С. 84-90.
41. *Попов В.М., Кириченко В.В., Панченко І.А.* Визначення рівня гібридності насіння соняшнику в промисловому насінництві // Селекція та насінництво. – 1999. - Вип. 82. – С. 134-138.
42. *Попов В.Н., Урбанович О.Ю., Кириченко В.В.* Исследование генетического разнообразия инбредных линий подсолнечника методами RAPD- и изоферментного анализов // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 7. – С. 937-943.
43. *Попов В.Н., Юшкіна Л.Л., Шарытина Я.Ю., Кириченко В.В.* Генотипические особенности скрещиваемости культурного подсолнечника с дикими видами и использование эмбриокультуры при отдаленной гибридизации // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, № 1.- С. 3-8.
44. *Рябота А.Н.* Цито-генетические исследования мужской стерильности подсолнечника (*Helianthus annuus* L.): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. - Харьков, 1971. – 16 с.
45. *Саналатий А.В., Солоденко А.Е., Сиволап Ю.М.* Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции при помощи SSRP-анализа // Цитология и генетика. – 2006, - Т. 40, №4. – С. 37-43.
46. *Сиволап Ю.М.* ДНК-технології і насінництво // Насінництво. – 2007. - № 1. – С. 12-14.

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

47. Сиволап Ю.М., Солоденко А.Е., Бурлов В.В. RAPD-анализ молекулярно-генетического полиморфизма подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) // Генетика. – 1998. – Т. 34, № 2. – С. 266-271.
48. Симоненко В.К., Карпович Е.В. Цитологическое проявление различных типов мужской стерильности у подсолнечника // Научно-техн. бюл. СГИ. – 1978. – Вып. 31. – С. 32-38.
49. Ситнік Д.В., Попов В.М., Кириченко В.В. Взаємодія різних типів цитоплазм з генами Rf диких видів та міжвидових гібридів соняшнику // Селекція та насінництво. – 2006. – Вип. 92. – С. 116-121.
50. Солоденко А.Е., Саналатий А.В., Сиволап Ю.М. Идентификация генотипов подсолнечника с помощью микросателлитных маркеров // Цитология и генетика. – 2004. – Т. 38, № 2. – С. 15-19.
51. Федоренко Т.С., Воскобойник Л.К., Прокопенко А.И. Влияние гиббереллина на формирование органов подсолнечника // НТБ ВНИИМК. – 1986. – С.25-30.
52. Френкель Р., Галун Э. Механизмы опыления, размножение и селекция растений. - М.: Колос, 1982. – 384 с.
53. Чепурная А.Л., Перишин А.Ф. Мобилизация новых типов цитоплазматической мужской стерильности в селекции подсолнечника // Науч.-техн. бюл. Ин-ту олійних культур. – 2000. – Вип. 5. – С. 41-43.
54. Черезженцева М.И., Мамонов И.Ф. Использование гиббереллина как гаметоцида в гетерозисной селекции // Бюл. НТИ по масличным культурам. ВНИИМК. – 1976. – Вып. 2. – С. 3-7.
55. Чиряев П.В. Химическая кастрация гомозиготных по Rf-генам линий подсолнечника // Масличные культуры. – 1986. - № 4. – С. 38.
56. Эльконин Л.А., Тырнов В.С. Генетический контроль цитоплазматической мужской стерильности растений: состояние проблемы и современные подходы для ее исследования // Генетика. – 2000. – Т. 36, № 4. – С. 437-450.
57. Шарытина Я.Ю., Попов В.Н., Кириченко В.В. Полиморфизм и генетический контроль некоторых изоферментных систем у мутантных линий подсолнечника // Цитология и генетика. - 2006. - Т. 40, № 1. - С. 27-33.
58. Георгиева-Тодорова Й. Генетични и цитогенетични изследвания на род *Helianthus* L. – София, 1990. – 132 с.
59. Berry S., Leon A., Hanfrey C., Challis P. et al. Molecular marker analysis of *Helianthus annuus* L. 2. Construction of an RFLP linkage map for cultivated sunflower // Theor. Appl. Genet. – 1995. – V. 91. – P. 195-199.
60. Bert P., Tourvieille D., Philippon J. et al. Identification of second linkage group carrying gene controlling resistance to downy mildew (*Plasmopara halstedii*) in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Ibid. – 2001. – V. 103. – P. 992-997.
61. Cronn R., Brothers M., Klier K. et al. Allozyme variation in domesticated annual sunflower and its wild relatives // Ibid. – 1997. – V. 95. – P. 532-545.
62. Chen J., Hu J., Vick B., Jan C. Molecular mapping of a nuclear male-sterility gene in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using TRAP and SSR markers // Ibid. – 2006. – V. 113. – P. 122-127.
63. Davis T., Yu H., Haigis K. et al. Template mixing: a method of enhancing detection and interpretation of codominant markers // Ibid. - 1995. – V. 91. – P. 582-588.
64. Dominguez-Gimenez J., Fick G. Fertility restoration of male-sterile cytoplasm in wild sunflower // Crop Sci. – 1975. – V. 15. – P. 724-726.
65. Duple C., Hahn V., Knapp S., Bauer E. Pl_{arg} from *Helianthus argophyllus* is unlinked to other known downy mildew resistance gene in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 109. – P. 1083-1086.
66. Echeverria M., Salaberry M., Rodriguez R. Characterization for agronomic use of cytoplasmic male-sterility in sunflower (*Helianthus annuus* L.) introduced from *H. resinosus* Small // Plant Breeding. – 2003. – V. 122. – P. 357-361.
67. Fick G., Miller J. Sunflower breeding // Sunflower technology and production. - USA, 1997. – P. 395-439.
68. Garcia-Moreno M., Vera-Ruiz M., Fernandez-Martinez J. et al. Genetic and molecular analysis of high gamma-tocopherol content in sunflower // Crop Sci. – 2006. – V. 46. – P. 2015-2021.
69. Gentzbittel L., Vear F., Zhang Y.-X. et al. Development of a consensus linkage RFLP map of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) // Theor. Appl. Genet. – 1995. - V. 90. – P. 1079-1086.
70. Heun M., Helentjaris T. Inheritance of RAPDs in F₁ hybrids of corn // Ibid. – 1993. – V. 85. – P. 961-968.
71. Horn R., Kohler R.H., Zetsche K.A. A mitochondrial 16kD protein is associated with cytoplasmic

- male sterility in sunflower // *Plant Mol. Biol.* – 1991. – V. 17. – P. 29-36.
72. *Horn R.* Molecular diversity of male sterility inducing and male-fertile cytoplasm in the genus *Helianthus* // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – V. 104. – P. 562-570.
73. *Horn R., Kusterer B., Lazarescu E. et al.* Molecular mapping of the *Rfl* gene restoring pollen fertility in PET1 – based F₁ hybrids in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Ibid.* – 2003. – V. 106. – P. 599-606.
74. *Jan C.C.* Inheritance and allelism of mitomycin C- and streptomycin-induced recessive genes for male sterility in cultivated sunflower // *Crop. Sci.* – 1992. – V. 32. – P. 317-320.
75. *Jan C.C.* Cytology and interspecific hybridization // *Sunflower Technology and Production.* - Madison (USA), 1997. – P. 497-558.
76. *Kahler A.L., Lay C.L.* Genetics of electrophoretic variants in the annual sunflower // *The Journal of Heredity.* – 1985. – V. 76. – P. 335-340.
77. *Kabbaj A., Vervoort V., Abbott A. et al.* Polymorphism in *Helianthus* and expression of stearat, oleate and linoleate desaturase genes in sunflower with normal and high oleic contents // *Helia.* – 1996. – V. 19, № 25. – P. 1-18.
78. *Kirichenko V., Popov V.* Genetics of isozymes and analysis of isozymes linkage and morphological loci in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Helia.* - 2000. – V. 23, № 33. – P. 65-76.
79. *Kohler T., Horn R., Lossl A., Zetsche K.* Cytoplasmic male sterility in sunflower is correlated with the co-transcription of a new open reading frame with the *atpA* gene // *Mol. Gen. Gen.* – 1991. – V. 262, № 2. – P. 283-290.
80. *Leclercq P.* Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol // *Ann. Amélior. Plant.* – 1969. – V. 19. – P. 99-106.
81. *Lu H.Y., Blanchard P., Vincourt P.* Molecular mapping of the recessive branching gene *b1* and the fertility restoration gene *Rfl* in sunflower // *Helia.* – 1998. - V. 21, № 29. – P. 1-8.
82. *Mokrani I., Gentzibittel L., Azanza F. et al.* Mapping and analysis quantitative trait loci for grain oil content and agronomic traits using AFLP and SSR in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – V. 106. – P. 149-156.
83. *Moneger F., Smart C.J., Leaver C.J.* Nuclear restoration of cytoplasmic male sterility in sunflower is associated with tissue-specific regulation of a novel mitochondrial gene // *EMBO J.* – 1994. – V. 86. – P. 259-268.
84. *Mouzeyar S., Roeckel-Drevert P., Gentzibittel L., Philippon et al.* RFLP and RAPD mapping of the sunflower P11 locus for resistance to *Plasmopara halstedii* race 1 // *Theor. Appl. Genet.* – 1995. – V. 91. – P. 733-737.
85. *Nestares G., Zorzoli R., Mroginski L., Picardi L.* Cytoplasmic effect on the regeneration ability of sunflower // *Plant Breeding.* – 1998. – V. 117. – P. 188-190.
86. *Perez-Vich B., Knapp S., Leon A., Fernandez-Martinez J., Berry S.* Mapping minor QTL for increased stearic acid content in sunflower seed oil // *Mol. Breed.* – 2004. – V. 13, № 4. – P. 313-322.
87. *Pizarro G.G., Carrera A.D., Poverene M. et al.* Comparative analysis of genetic relationships in sunflower inbred lines, based on isozymic, RAPD and pedigree data // 15 International Sunflower Conference. - 2000. – E. 111.
88. *Schilling E.E., Heiser C.B.* Infrageneric classification of *Helianthus* (Compositae) // *Taxonomy.* – 1981. - № 30. – P. 393-403.
89. *Schnable S., Wise R.* The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration // *Trends in Plant Sci.* – 1998. – V. 3, № 5. – P. 175-180.
90. *Serieys H.* Identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources, FAO sunflower research subnetwork // IX FAO technical consultation of the Europe cooperative research network on sunflower. - Dobrich (Bulgaria), 1999.
91. *Sossey-Alaoui K., Serieys H., Tersac M. et al.* Evidence for several genomes in *Helianthus* // *Theor. Appl. Genet.* – 1998. – V. 97. – P. 422-430.
92. *Tang S., Yu J., Slabaugh M. et al.* Simple sequence repeat map of the sunflower genome // *Ibid.* – 2002. - V. 105. – P. 1124-1136.
93. *Vera-Ruiz E., Velasco L., Leon A. et al.* Genetic mapping of the *tph1* gene controlling beta-tocopherol accumulation in sunflower seeds // *Mol. Breed.* – 2006. – V. 17, № 3. – P. 291-296.
94. *Vick B., Berry S., Velasco L. et al.* Molecular mapping of nuclear male sterility genes in sunflower // *Crop Sci.* – 2005. – V. 45. – P. 1851-1857.

Поступила в редакцию
16.05.2007 г.

МУЖСКАЯ СТЕРИЛЬНОСТЬ ПОДСОЛНЕЧНИКА

MALE STERILITY OF SUNFLOWER. THEORETICAL AND PRACTICAL ASPECTS

V. N. Popov¹, V. V. Kyrychenko^{1,2}

¹*V.V. Dokuchaev Kharkiv National Agrarian University
(Kharkiv, Ukraine)*

²*V. Yurjev Plant Production Institute of Ukrainian Academy of Agrarian Science
(Kharkiv, Ukraine)*

In the review different types of male sterility: nuclear male sterility (NMS), cytoplasmic male sterility (CMS) and sterility which induces different factors is considered. The results of research in field of inheritance of NMS and CMS, mapping of genes which control male sterility with use different molecular markers. The questions of relationship plastome and genome in manifestation of CMS were showed. The attention is given theoretical and practical use biochemical and molecular markers in sunflower heterotic breeding.

Key words: *Helianthus, cytoplasmic male sterility, nuclear male sterility, variability, inheritance, markers*

ЧОЛОВІЧА СТЕРИЛЬНІСТЬ СОНЯШНИКУ. ТЕОРЕТИЧНІ ТА ПРАКТИЧНІ АСПЕКТИ

В. М. Попов¹, В. В. Кириченко^{1,2}

¹*Харківський національний аграрний університет ім. В.В. Докучаєва
(Харків, Україна)*

²*Інститут рослинництва ім. В.Я. Юр'єва Української академії аграрних наук
(Харків, Україна)*

Розглядаються різні типи чоловічої стерильності соняшнику: генна чоловіча стерильність (ГЧС), цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦЧС) та стерильність, яка індукована різними факторами. Узагальнені результати досліджень успадкування ГЧС та ЦЧС та маркування генів, які відповідають за прояв чоловічої стерильності з використанням різних молекулярних маркерів. Розглянуті питання взаємодії плазмону та геному у прояві ЦЧС. Показана роль гібереліну в індукції стерильності у соняшнику. Приділяється увага теоретичному та практичному використанню біохімічних та молекулярних маркерів у гетерозисній селекції соняшнику.

Ключові слова: *Helianthus, цитоплазматична чоловіча стерильність, генна чоловіча стерильність, мінливість, спадкування, маркери*