

УДК 575.222:631.527.56:633.853

І.Ю. СТУПАК, аспірантка

М.Ф. ПАРИЙ, кандидат біологічних наук

М.Д. МЕЛЬНИЧУК, доктор біологічних наук, професор, академік НААН

Національний університет біоресурсів та природокористування України

e-mail: irka.stupak@gmail.com

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ СЕЛЕКЦІЇ ГІБРИДІВ РІПАКУ НА ОСНОВІ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ЧОЛОВІЧОЇ СТЕРИЛЬНОСТІ

Створено колекцію форм ярого та озимого ріпаків та проведено її скринінг на основі розробленої системи ДНК-маркерів для ідентифікації різних компонентів системи ЦЧС типу Огура-ІНРА. Виділено форми донори-компонентів системи цитоплазматичної чоловічої стерильності.

Ключові слова: ріпак, молекулярні маркери, ЦЧС, ідентифікація компонентів.

Вступ. Створення високоврожайних гібридів сільськогосподарських культур набуває першочергового значення при інтенсифікації аграрного сектора. Серед олійних культур ріпак займає друге місце в Україні за площею посіву і валовим виробництвом. В останні роки в селекції цієї культури все більший інтерес викликає використання ефекту гетерозису. На сьогоднішній день це особливо актуально, оскільки багато країн Європи вже давно використовують у виробництві гібриди ріпаку. Основними виробниками ріпаку є такі країни: Китай, Індія, Канада, Японія, Німеччина, Франція, Чехія, Польща [3, 9].

У світі гібридна селекція ріпаку розпочалася з винаходом системи цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС) Огура-ІНРА (Франція) і системи ядерної чоловічої стерильності МСЛ компанії Лембке (Німеччина) [10, 15]. Найпоширенішою системою для створення гібридів першого покоління є система ЦЧС типу Огура-ІНРА. Мітохондріом цього типу стерильності отримано шляхом рекомбінації мітохондріому дикої редьки та мітохондріому ріпаку [10]. Така рекомбінація була досягнута в наслідок злиття протопластів стерильного ріпаку, отриманого як результат беккросування геному ріпаку на геном редьки дикої. Відновлення фертильності відбувається за наявності домінантного алеля гена *Rf0*. Перші відновлювачі фертильності, що використовувались в селекції ріпаку, як показали подальші дослідження, несли частину хромосоми дикої редьки довжиною близько 50сМ. Така інтродукована ділянка мала в своєму складі гени та алелі, що детермінували негативні прояви господарсько-цінних ознак. Сучасні відновлювачі фертильності мають в своєму складі рекомбіновану ділянку, що містить послідовність гену *Rf0* з короткими фланкуючими повторами. Досягти високого рівня рекомбінації між гетерологічними ділянками вдалося використовуючи рентгенівське випромінювання з подальшим відбором рекомбінантів за ДНК-маркерами [7, 8, 10, 16]. Для отримання гібридного насіння з використанням цієї системи, як і для більшості систем ЦЧС, необхідно мати три типи компонентів гібридів. Перший компонент - стерильна материнська форма, яка характеризується наявністю специфічної рекомбінантної мітохондріальної ДНК Огура типу і ядерного матеріалу *Brassica napus* L.. Другий - батьківська форма - відновник фертильності, що несе гени відновлення фертильності, які передані в геном *Brassica napus* L. з виду *Raphanus sativus* L. [10]. Третій - закріплювач стерильності для відтворення стерильної материнської форми - її аналог за ядерним геномом, але з мітохондріомом виду *Brassica napus* L.. Усі три компоненти можуть бути створені шляхом класичної селекції методом беккросів. При переведенні будь-якого гібриду на основу цитоплазматичної чоловічої стерильності селекціонер стикається з рядом проблем, наприклад, необхідно мати достатньо велику популяцію, що розщеплюється, щоб відібрати генотип з господарсько-цінними ознаками; переведення гібридів на ЦЧС основу здійснюють шляхом беккросування, що вимагає додатково 7-8 поколінь схрещувань; можливість проводити добір у популяції за необхідною ознакою з'являється на пізніх етапах онтогенезу рослин і може бути ускладнена впливом навколишнього середовища на прояв цієї ознаки; відбір за ознакою «стерильність»

або «закріплення-відновлення» вимагає проведення аналізуючих схрещувань. Останнє десятиріччя характеризується широким застосуванням ДНК-маркерів, що дозволяють спростити процедуру беккросування та зменшити обсяги робіт, пов'язані з аналізуючими схрещуваннями. Отже, специфіка сучасної селекційної діяльності та інтенсифікація селекційного процесу вимагають підходів і методів, які дозволять ефективно і швидко створювати [1] та ідентифікувати [5-8, 10, 16] компоненти генетичної системи контрольованого розмноження. Нами розроблено методи зворотної селекції на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності [2], суть яких полягає в отриманні двох комплементарних ліній із стартового гетерозиготного генотипу на основі ЦЧС. В результаті утворюються два компоненти системи ЦЧС: стерильна лінія (S^{rfrf}) і відновлювач фертильності (S^{RrRf}). Для практичної реалізації винаходу необхідно мати третій компонент – аналог материнської стерильної форми, який містить мітохондріом дикого типу – закріплювач стерильності (N^{rfrf}). Створення такого ідіотипу методами класичної селекції вимагає як мінімум 10 поколінь [4]. Альтернативним підходом, що пропонується, є об'єднання ядерного геному ($rfrf$) з мітохондріомом дикого типу (N) методами клітинної інженерії. Крім того, в класичній схемі гетерозисної селекції основним вихідним матеріалом на сьогодні є гібриди першого покоління на основі ЦЧС. При створенні самозапильних ліній отримати форми закріплювачі стерильності не можливо, оскільки, ці гібриди містять стерильну цитоплазму. Таким чином, як в рамках класичних підходів, так і при реалізації нових методів селекції ідентифікація компонентів ЦЧС є актуальним завданням сучасної селекції.

Метою досліджень було створення системи ДНК-маркерів та підбір на основі скринінгу колекції форм, які будуть виступати донорами-компонентами генетичної системи контрольованого розмноження на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності.

Матеріали та методика досліджень. Рослинний матеріал. Лінії створювали на основі робочих селекційних колекціях озимого та ярого ріпаку Всеукраїнського наукового інституту селекції (ВНІС) та Національного університету біоресурсів та природокористування України. Підходи щодо створення ліній описані в наступному розділі. Подальші дослідження проводили як на оригінальних формах, що були представлені в вище зазначених колекціях, так і на новостворених формах. Скринінг проводили наступним чином: під час цвітіння відбирали зразки з типових рослин в межах одного рядку – потомства однієї рослини та/або схрещування. В кожному рядку відбирали 10 рослин. Відібрані зразки заморожувалися до проведення лабораторних робіт. В лабораторних умовах зразки гомогенізували та проводили екстракцію ДНК за стандартною методикою з використанням ЦТАБ-буфера [13]. Для створення системи ДНК маркерів використано 1 пару олігонуклеотидних праймерів, специфічних до гену закріплення-відновлення та 2 пари - специфічних до генів, що детермінують ЦЧС типу Огура. Температуру відпалу праймерів визначали за спрощеною формулою [12], так як сумарна довжина олігонуклеотидів не перевищувала 20 основ: $T_m = [(A+T) \times 2 \text{ }^\circ\text{C}] + [(G+C) \times 4 \text{ }^\circ\text{C}]$ (1).

Ампліфікацію проводили в такому температурному режимі: початкова денатурація: 5хв за 95°C; 35 циклів: 30с за 94°C; 30с за відповідної температури відпалу кожної пари праймерів; 30с за 72°C; термінальна елонгація: 7хв за 72°C. Реакцію ампліфікації проводили у трьох повтореннях. Продукти ПЛР розділяли електрофорезом в 1% агарозному гелі з 1× TBE-буфером при напрузі поля 5 V/см. В якості маркера молекулярного розміру використовували MassRuler DNA Ladder Mix “SM0403” (Fermentas).

Результати досліджень. Робота включала два взаємопов'язаних завдання: створення системи ДНК-маркерів та створення форм-донорів компонентів генетичної системи контрольованого розмноження на основі ЦЧС типу Огура-ІНРА. Більшість форм, що представлені в колекції характеризуються значною гетерогенністю, так як представляють собою перше або друге покоління гібридів, що мають виробниче поширення, крім того, не виключене переzapилення цих форм з іншими сортами чи гібридами. Використання таких форм як донорів генів-компонентів ЦЧС неможливе. Тому, першим необхідним кроком для досягнення поставленої мети була гомозиготизація вихідного матеріалу. При здійсненні цього ми керувались

інформацією про походження форми, фенотиповим проявом ознаки стерильність/фертильність та розщепленням за цією ознакою при аналізуючих схрещуваннях та перезапиленні.

Створення стерильних форм. В рамках роботи було проведено багаторазове самозапилення гібридів першого покоління, що мають виробниче значення. Наявність стерильної цитоплазми та генів закріплення/відновлення перевіряли за фенотиповим проявом ознаки стерильність/фертильність в послідовних поколіннях. Відбирали сім'ї, які давали розщеплення на стерильні та фертильні рослини у співвідношенні 3:1. Фертильні рослини самозапилювали. Використовуючи цей підхід було отримано лінії, що мали стерильну цитоплазму та гетерозиготність за генами закріплення відновлення. Подальше розмноження цих ліній здійснювали шляхом запилення стерильного аналога фертильним, що призводило до формування розщеплення 1:1 за ознакою стерильність/фертильність.

Форми, що мають відновлювальну здатність створювали шляхом самозапилення гібридів першого покоління на основі ЦЧС та гібридів першого покоління, в яких материнською формою виступали зразки із цитоплазмою дикого типу. При самозапиленні гібридів відбирали форми з відновлювальною фертильністю, які не давали розщеплення. За наявності цитоплазми дикого типу проводили аналізуючі схрещування із стерильними компонентами. Закріплювачі стерильності створювали шляхом схрещування гібридів першого покоління із донорами цитоплазми дикого типу, які виступали материнськими формами. Надалі проводили багаторазове самозапилення з аналізуючими схрещуваннями на стерильні форми та аналізом ознаки стерильність/фертильність. Використовуючи вищеописані підходи було створено колекцію форм для подальшого скринінгу та виділення донорів-компонентів системи цитоплазматичної чоловічої стерильності.

Наступним етапом роботи було створення-системи ДНК маркерів, що: дозволить ідентифікувати рецесивні та домінантні алелі гена закріплення-відновлення; дозволить ідентифікувати цитоплазматичні гени, які детермінують ЦЧС типу Огура-ІНРА; дасть можливість ідентифікації нормальної цитоплазми дикого типу. На основі доступних депонованих даних та літературних джерел [11, 14, 17] нами було здійснено підбір праймерів для специфічних ділянок ДНК, що детермінують ЦЧС типу Огура-ІНРА - *orf138*, *orfB*; що відповідають за прояв ознаки закріплення/відновлення - *Rf0*. В таблиці 1 наведено характеристику праймерів, що були використані в дослідженні.

Таблиця 1

Характеристика - ДНК-маркерів, специфічні для гену закріплення-відновлення та генів, що детермінують ЦЧС типу Огура-ІНРА

№ п/п	Назва праймера	Нуклеотидна послідовність (5'-3')	Ген (М – мітохондріальний, Я – ядерний)	Розмір продукту, п. н.	Температура відпалу (1), °С
1	orf138 F	GCCACGTGTAGCCCTGTAT	orf138 (М) - детермінує ЦЧС типу Огура-ІНРА	1068	60
2	orf138 R	TGAAGCTGTCTGGAGGGAAT			60
3	orfB F	CTGTCTGGAGGGAATCAT	orfB (М) - детермінує ЦЧС типу Огура-ІНРА	724	52
4	orfB R	ACTGAGTAAGATTCGGGGG			54
5	Rf0 F	CTTTTCTTTTGTGTTT	Rf0 (Я) - ген закріплення/відновлення	1024	60
6	Rf0 R	TATATGTACSTTTGCCTCTTC			54

Розміри продуктів ампліфікації склали 768, 1024 та 1068 пар нуклеотидів, що дозволило проводити мультиплексну реакцію ПЛР для одночасної ідентифікації всіх трьох компонентів.

Температуру відпалу праймерів підбирали емпіричним шляхом, починаючи в діапазоні від 55°C до 60°C з кроком 1°C. Оптимальною температурою відпалу для ПЛР з праймерами *orf138* та *Rf0* виявилася 55°C, а для *orfB* - 56°C. За таких умов було ампліфіковано фрагменти ДНК очікуємих розмірів в достатній для візуалізації кількості (рис. 1).

В подальшому всі три пари праймерів використовували для ампліфікації в мультиплексній реакції. Наявність в системі ДНК-маркерів специфічних для ділянок геному та мітохондріому, що детермінують ЦЧС типу Огура-ІНРА дозволила нам при скринінгу ідентифікувати всі можливі ідіотипи: стерильну форму (*orf138 orfB*) *rf0rf0*, за наявності продуктів ампліфікації.

лфікації мітохондріальних послідовностей та відсутністю продукту ампліфікації ядерного гена закріплення-відновлення; закріплювач стерильності (Nap) *rf0rf0*, за відсутності ампліфікації як фрагментів мітохондріому, так і фрагментів ампліфікації гену закріплення-відновлення, відновлювач фертильності на стерильній і фертильній цитоплазмі (*orf138 orfB*) *RfORf0*, (*orf138 orfB*) *Rf0rf0*, (Nap) *Rf0rf0*, (Nap) *RfORf0*, за наявності ампліфікованого фрагменту зчепленого із функціональним алелем гена закріплення/відновлення, не залежно від наявності чи присутності ампліфікації ДНК-маркерів мітохондріому стерильного типу; донори нормальної (Nap) цитоплазми дикого типу: (Nap) *Rf0rf0*, (Nap) *RfORf0*, (Nap) *rf0rf0*, за відсутністю ампліфікації мітохондріальних ділянок.

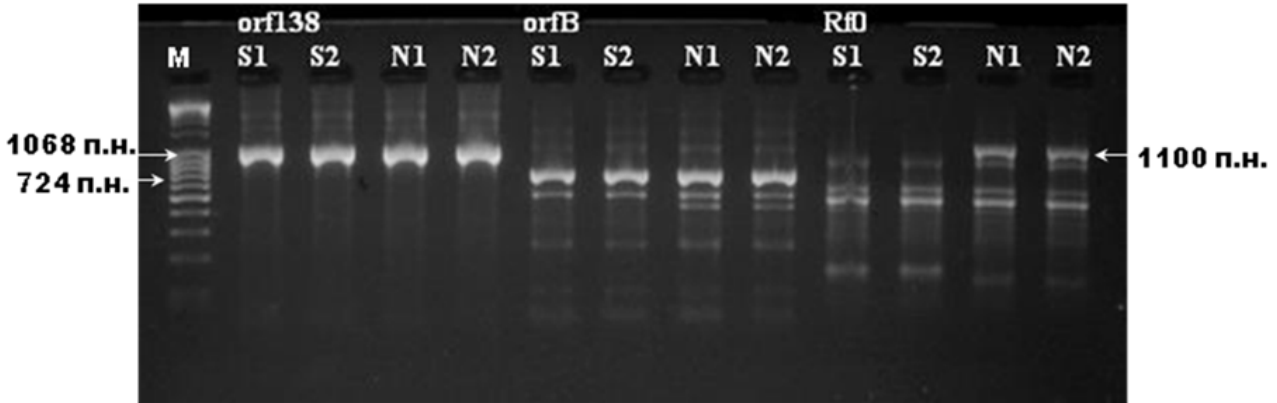


Рис. 1 Електрофореграма продуктів ампліфікації з праймерами до генів *orf 138*, *orf B*, *Rf0* (S1, S2 – чоловічо-стерильна форма, N1, N2 – відновлювач фертильності на стерильній плазмі, M - маркер молекулярного розміру MassRuler DNA Ladder Mix “SM0403” (Fermentas)).

Нами було проведено аналіз колекції ярого та озимого ріпаку за трьома маркерами. Вибрані результати скринінгу колекції ярого ріпаку наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Результати аналізу колекції ярого ріпаку за ознакою ЦЧС і геном закріплення/відновлення

Назва	Країна походження	Наявність/відсутність амплікону (ідіотип), +/-			Компонент ГСКР та його характеристика
		<i>orf 138</i>	<i>orf B</i>	<i>Rf0</i>	
1	2	3	4	5	6
Clipper	Німеччина	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
BE41306	Німеччина	+	+	+	Відновник фертильності на стерильній основі
Haydn	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Pauline	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Campino	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Visum	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Ірис	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Форте	Німеччина	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
Яр222	Україна	+	+	-	Стерильна форма
ЗА 547/11	Україна	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми

Як видно з наведених даних в створеній колекції ярого ріпаку донорів цитоплазми дикого типу не виявлено, про що свідчить наявність фрагменту *orfB*. Однак цей тип цитоплазми по відношенню до ознаки закріплення/відновлення є нормальним, тобто детермінує нормальне функціонування андроцею незалежно від наявності інтродукованої ділянки з функціональним геном закріплення/відновлення. Форми BE41306 та Яр222 при аналізі характеризують

вались наявністю фрагменту *orf138* та *orfB*, тобто несли мітохондріом стерильного типу Огура-ІНРА. Форма ВЕ41306 має в своєму генотипі функціональний алель закріплення/відновлення, тобто є відновлювачем фертильності на основі стерильної цитоплазми. Зразок Яр 222, навпаки, не має в своєму генотипі функціонального алелю гена закріплення/відновлення і є стерильною формою на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності Огура-ІНРА типу.

Аналіз колекції озимого ріпаку показав, що в її склад входять як форми із цитоплазмою, що детермінує цитоплазматичну чоловічу стерильність, так і форми із мітохондріомом, що детермінує фертильний фенотип. Серед них були наявні зразки, що мали мітохондріом дикого типу та форми з мітохондріомом, в якому наявна відкрита рамка зчитування *orfB*. Сорти Чорний Велетень, Дангал та Оділа при аналізі характеризувались відсутністю всіх трьох ампліконів. Це свідчило про їхню нормальну цитоплазму дикого типу. Форми Атлант, 101-011, 301-011 а також 229/453 та 277/922 несли в своєму мітохондріомі відкриту рамку зчитування *orfB*. Ці форми можуть бути використані як закріплювачі стерильності для створення стерильних аналогів, оскільки не містять генів відновлення, а мітохондріом детермінує нормальний прояв ознаки фертильності. Форми Мельгідро, Бат 34/12, 788/11, 789/11 та 756/12 мають в своєму генотипі функціональний алель відновлення фертильності. Тобто, вони можуть бути донорами гену *Rf0* при створенні відновлювачів фертильності, або ж, самі виступати батьківськими компонентами гібридів за умови їх високої специфічної комбінаційної здатності. Крім того, ці форми можуть слугувати донорами цитоплазми нормального типу при їх використанні в клітинно-інженерному підході, за виключенням форми Мельгідро, яка має мітохондріом стерильного типу. Вибрані результати скринінгу колекції озимого ріпаку наведено в таблиці 3.

Таблиця 3

Результати аналізу колекції озимого ріпаку за ознакою ЦЧС і геном закріплення/відновлення

Назва	Країна походження	Наявність/відсутність амплікону (ідіотип), +/-			Компонент ГСКР та його характеристика
		<i>orf 138</i>	<i>orf B</i>	<i>Rf0</i>	
Чорний Велетень	Україна	-	-	-	Донор нормальної цитоплазми дикого типу
Дангал	Україна	-	-	-	Донор нормальної цитоплазми дикого типу
Оділа	Чехія	-	-	-	Донор нормальної цитоплазми дикого типу
Атлант	Україна	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
101-011	Німеччина	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
301-011	Німеччина	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
104-011	Німеччина	+	+	-	Стерильна форма
Лівіус	Німеччина	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
VnS	Україна	+	+	-	Стерильна форма
Мельгідро	Україна	+	+	+	Відновник фертильності на стерильній цитоплазмі
Бат26/12	Україна	-	-	-	Донор нормальної цитоплазми дикого типу
Бат34/12	Україна	+	+	+	Відновник фертильності на основі цитоплазми типу Огура ІНРА
Mat45/12	Україна	+	+	-	Стерильна форма
Mat20/12	Україна	+	+	-	Стерильна форма
789/11	Україна	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
788/11	Україна	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
756/12	Україна	-	+	+	Відновник фертильності на нормальній цитоплазмі
229/453	Україна	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми
277/992	Україна	-	+	-	Донор нормального типу цитоплазми

Проведений аналіз за допомогою розробленої системи ДНК-маркерів, показав, що всі наведені в таблиці стерильні форми мають ідіотип стерильної форми Огура-ІНРА. Такі стерильні форми було включено в подальшу роботу для створення закріплювачів стерильності клітинно-інженерними методами та в схему селекційного процесу для визначення специфічної комбінаційної здатності.

Висновки. Таким чином, було створено колекцію озимого та ярого ріпаку та проведено скринінг за ознакою ЦЧС і за геном відновлення фертильності. В колекції ярого ріпаку було виявлено: донорів дикого типу цитоплазми – 0, донорів нормального типу цитоплазми – 2, відновників фертильності на стерильній основі – 1, відновників фертильності на нормальній цитоплазмі – 6, стерильних форм – 1. В колекції озимого ріпаку було виявлено: донорів дикого типу цитоплазми – 4, донорів нормального типу цитоплазми – 6, відновників фертильності на стерильній основі – 2, відновників фертильності на нормальній цитоплазмі – 3, стерильних форм – 4. Відібрані форми будуть використовуватись в подальших селекційних дослідженнях для створення закріплювачів стерильності методом соматичної гібридизації.

Розроблена система ідентифікації дозволяє використовувати її як при створенні гібридів першого покоління за класичних методів так і при аналізі регенерантів при створенні стерильних компонентів та закріплювачів стерильності шляхом соматичної гібридизації. Використання розроблених підходів дозволить підвищити ефективність створення гібридів в порівнянні з існуючими класичними методами селекції.

Список використаних літературних джерел

1. Деклараційний патент України № 59137А. Спосіб створення закріплювачів стерильності цукрових буряків / Лялько І.І., Дубровна О.В., Парій Ф.М. Бюл. № 8.- 2003р.- 8с.
2. Заявка на патент на винахід № А201212969 (U201212970, U201212973, U201212974, U201212975, U2012129736, U201212977). Спосіб відтворення гетерозиготного генотипу вищих рослин на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності / Парій М.Ф., Ступак І.Ю., Мельничук М.Ф., Спиридонов В.Г., Ситник К.С., Вдовиченко Ж.В. Позитивне рішення на видачу патенту від 27.02.2013.
3. Карлов Г.И. Молекулярно-генетические и молекулярно цитогенетические подходы для ускоренного создания селекционного материала растений с заданными свойствами: автореф. дис. докт. биол. наук: 03.00.23; 03.00.15/ Геннадий Ильич Карлов. —Москва, 2009. — 50 с.
4. Патент України на винахід 82013, МПК6А01Н 1/04. Спосіб відтворення гетерозиготних форм вищих рослин. / Парій М.Ф., Ситник К.С., Парій Ю.О., Якушко Ю.Є., Спиридонов В.Г., Мельничук М.Д., -№. а 2006 10714; Заявлено 10.10.2006; Опубліковано 25.02.2008, Бюл. № 4. 2008. 2000.
5. Chase C.D. (2006) Genetically engineered cytoplasmic male sterility. Trends Pharmacol. Sci. 11:7–9. doi:10.1016/j.tplants.2005.11.003.
6. Chen Liming et al. Cytological and Molecular Identification of Cytoplasm in Two Male Sterile Lines in Radish // Molecular Plant Breeding, 2009, Vol.7, No.4, 757-762.
7. Delourme R. et al. (1998) Characterisation of the radish introgression carrying the Rfo restorer gene for Ogu-INRA cytoplasmic male sterility in rapeseed (*Brassica napus* L.). Theor. App. Genet., 97, 129–134.
8. Delourme R., Eber F. Linkage between an isozyme marker and a restorer gene in radish cytoplasmic male sterility of rapeseed (*Brassica napus* L.), Theor. App. Genet., 1992, 97: 222-228.
9. G.G. Brown Unique aspects of cytoplasmic male sterility and fertility restoration in *Brassica napus*. The Journal of Heredity. – 1999:90(3).
10. Heyn F.W. (1976) Transfer of restorer genes from *Raphanus* to cytoplasmic male sterile *Brassica napus*. Cruciferae News, 1, 15–16.
11. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
12. <http://sciencelauncher.com/oligoalc.html>.

13. Keb-Llanes et al. // Plant molecular biology reporter.— 2002.—V.20, 299a-299e.
14. Krishnasamy S., Makaroff C.A. Characterization of the radish mitochondrial orfB locus: possible relationship with male sterility in Orypa radish. Curr Genet 24 (1-2):156-163.
15. Ogura H. (1968) Studies on the new male-sterility in Japanese radish with special reference to the utilisation of this sterility towards the practical raising of hybrid seeds. Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ., 6, 39–78.
16. Pelletier G, Primard C, Vedel F, Chйtrit P, Рйmy R, Rousselle P, Renard M (1983) Intergeneric cytoplasmic hybridization in Cruciferae by protoplast fusion. Mol Gen Genet 191:244–250.
17. Primard-Brisset C. et al. A new recombined double low restorer line for the Ogu-INRA cms in rapeseed (Brassica napus L.) Theor. App. Genet., 2005, 111: 736-746.

Аннотация

Ступак I.Ю., Парй М.Ф., Мельничук М.Д.

Биотехнологические аспекты селекции гибридов рапса на основе цитоплазматической мужской стерильности

Создана коллекция форм ярового и озимого рапса и проведен скрининг её на основе разработанной системы ДНК-маркеров для идентификации различных компонентов системы ЦМС типа Огура-ИНРА. Выделены формы-доноры компонентов системы цитоплазматической мужской стерильности.

Ключевые слова: рапс, молекулярные маркеры, ЦМС, идентификация компонентов.

Annotation

Stupak I., Parii M., Melnychuk M.

Biotechnological aspects of rape hybrid breeding based on cytoplasmic male sterility

A collection of spring and winter rapeseed forms was produced and screened on the basis of the developed system of DNA markers for identification of Ogura-INRA CMS system components. The forms – donors of components of cytoplasmic male sterility are selected.

Keywords: rape, molecular markers, CMS, identification of components.