

СОЗДАНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ПЕРЦА СЛАДКОГО С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЧЕРНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПЯТНИСТОСТИ НА БАЗЕ ЦМС

О.Г. Пистун, С.В. Королева, Д.П. Радько

ФГБНУ «ФНЦ риса», г. Краснодар, Россия, e-mail: pistun-o@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты селекционно-иммунологической работы с линиями перца сладкого. Выделены в 4-х линиях устойчивые биотипы к черной бактериальной пятнистости, при этом 3 линии показали себя гетерозиготами по гену *Rf* и одна линия – гомозиготой $-C_N Rf Rf$, которые рассматриваются как перспективный материал в селекции на базе ЦМС.

Ключевые слова: перец сладкий, селекция, ЦМС, восстановитель фертильности, черная бактериальная пятнистость, устойчивость.

Введение. В настоящее время в странах с развитой экономикой производство перца сладкого базируется на возделывании гетерозисных гибридов. Использование ядерно-цитоплазматической мужской стерильности – эффективная система при семеноводстве гибридов перца, но имеет ограничения в селекции из-за недостатка исходного материала в сортименте. Применение ЦМС для производства гибридных семян требует материнской стерильной линии $[(S) rfrf]$, поддерживающей линии $[(N) rfrf]$ – закрепитель стерильности и мужской линии восстановления фертильности $[(S/N) RfRf]$. Для обеспечения фертильности гибридов F_1 необходима сильная мужская линия-восстановитель фертильности, несущая ген Восстановителя фертильности (*Rf*) [4]. Отбор и выведение мужской линии восстановления фертильности является важной селекционной целью в системе ЦМС */Rf*, что обеспечивает чистоту гибридных семян. Основная сложность при селекции на основе ЦМС – создание коллекции линий – восстановителей фертильности. Второй проблемой, с которой сталкиваются производители перца и селекционеры - это создание устойчивых гибридов к наиболее вредоносным заболеваниям, среди них – черная бактериальная пятнистость, которая нередко в последние годы проявляется и в Краснодарском крае [1]. Действительно, изменения климата и риск нарушения устойчивости влияют на долговечность устойчивости к болезням, поэтому существует острая необходимость в разработке новых устойчивых сортов и гибридов, которые можно адаптировать к различным почвенно-климатическим условиям. В этом контексте стратегии генной пирамиды могут позволить накапливать гены резистентности в одном генотипе и создавать более прочные механизмы широкого спектра действия[3]. Черная бактериальная пятнистость (*Xanthomonas campestris* sp. *Vesicatoria*), является одной из вредоносных бактериальных болезней пасленовых, которая вызывает значительные потери урожая во всем мире. В отдельные, благоприятные для развития заболевания годы, – потери от заболевания могут составлять до 80% от урожайности, что заставляет производителей искать практические и устойчивые решения[2]. До недавнего времени устойчивых гибридов на юге Краснодарского края не было в ассортименте. В последнее время за рубежом созданы гибриды, с геном *Bs2* – которые имеют устойчивость к большинству штаммов этой болезни. Из иностранных гибридов в Краснодарском крае выращиваются такие гибриды: Аммаретта F1 и Иветта F1. Данные гибриды комплексом хозяйственно - ценных признаков и устойчивостью послужили исходным материалом для работы по созданию устойчивых линий.

Цель исследований – создать селекционный материал, сочетающий ген восстановления фертильности и устойчивость к черной бактериальной пятнистости.

Материалы и методы. Селекционная работа по созданию линий восстановителя фертильности проводилась методом межлинейной гибридизации в весенней пленочной неотапливаемой теплице. Рассадку выращивали в кассете № 64, высадка рассады образцов в теплицу – 3-я декада апреля. Объект исследований: линии перца сладкого F₂ - F₅ поколения – ген источника черной бактериальной пятнистости и гена *Rf*, стерильные линии перца, линии закрепители стерильности, гибриды F₁. Используемые виды скрещиваний: анализирующие, насыщающие, топ-кроссы. При проведении анализирующих скрещиваний в качестве отцовского компонента использовали – растение, которое необходимо проверить на наличие аллелей гена – восстановителя фертильности (*Rf*) или закрепителя стерильности (*rf*) в гомозиготном или гетерозиготном состоянии. Оценка стерильности/фертильности гибридных растений предварительно проводили в фазе плодообразования, а затем делали учет по завязыванию семян в каждом плоде. По результатам оценки определяли генотип отцовского растения по гену *Rf*.

Опыты по устойчивости линии к черной бактериальной пятнистости проводили в камерах искусственного климата ФГБНУ «ФНЦ риса» в 2022 году, применяя искусственное заражение. Для оценки на инфекционном фоне материалом служили линии перца сладкого, полученные с участием коллекционного материала с устойчивостью к черной бактериальной пятнистости – АмареттаF₂ и ИветтаF₂. На 7 и 28 день фиксировали зараженные патогеном растения.

Результаты исследований. Устойчивость – это восприимчивость растений, вследствие взаимодействия растения и патогена. Развитие эффективной устойчивости перца сладкого к широкому спектру патогенов обычно требует огромных ресурсов и усилий при использовании традиционных подходов к селекции.

Анализ данных и поиск устойчивых форм к черной бактериальной пятнистости у родительских линий проводили на искусственном фоне заражения. Исходным материалом в опыте служили линии перца сладкого, полученные с участием коллекционного материала с устойчивостью к черной бактериальной пятнистости и, возможно, несущих ген *Rf* в гомозиготном или гетерозиготном состоянии, вследствие скрещивания с линиями восстановителями фертильности (Креп312, Самф322 и SSR9) на начальном этапе получения селекционного материала.

Инкубационный период черной бактериальной пятнистости длится 3-6 дней. Анализ данных показал, что на 7-й день после заражения распространение заболевания составляло от 0 до 41,7 %. Без признаков поражения был образец (Аммаретта3 x Креп312), максимально поражен образец (SKK9 x Иветта1) 41,7 %. Наибольшую резистентность к бактериальной пятнистости из представленных образцов перца проявили: (Самф325 x Амаретта3), (103-2), и (Амаретта3 x Креп312) F₃ (106-3). Надо отметить, что заражение проходило медленно, максимальная дифференциация между неустойчивыми и частично устойчивыми образцами проявилась на 28-й день. Из таблицы 1 видно, что степень поражение на 28-ой день после заражения увеличилось на 25-62,5 %. Наиболее толерантным к заболеванию оказалась линия (106-3), процент поражения которой увеличился на 25 %. Линии № 104, 99,101 и 103-2, находилось в пределах 37,4-45,9 %. У линий №100 (Амаретта3 x Креп312)F₃ и №105 (Амаретта3 x Креп312)F₃ процент распространения заболевания составил 56,5 и 62,5 %.

Данные образцы были пересажены в теплицу для дальнейшей оценки потомств на устойчивость и использование для гетерозисной селекции перца на основе ЦМС (таблица 2).

Таблица 1. Распространение черной бактериальной пятнистости на образцах перца сладкого на искусственном фоне заражения в динамике, %

№	Гибрид	Даты учета	
		7-й день	28-й день
99	(Самф325 x Амаретта3)	20,8	62,5
100	(Амаретта3 x Креп312)F ₃	17,4	73,9
101	(SKK9 x Амаретта1) F ₃	30,4	73,9
103-2	(Амаретта21xSKK9)	20,8	66,7

103-1	(Амаретта21хSSK9)	29,2	58,3
104	(SSK9 х Иветта1) F3	41,7	79,1
106-3	(Амаретта3 х Креп312)F3	33,3	58,3
105	(Амаретта3 х Креп312)F3	0	62,5
109-1	Амаретта3F5	20,8	87,5
113	Иветта1F5	31,2	37,5

Одним из основных этапов селекционной работы является изучение коллекционного материала с целью выделения ген-источников, несущих ген *Rf* и поиск форм, закрепителей стерильности. Были проведены анализирующие скрещивания: между стерильной линией и растениями не пораженными в процессе заражения, которые могут быть гомо или гетерозиготами по устойчивости. По результатам идентификации и определяли генотип отцовского растения по гену *Rf*. Результаты тестирования, представленные в таблице 2, показывают, что в большинство анализируемых комбинаций дают расщепление по гену *Rf*. В комбинации № 94(msКуб1х(Амаретта21х SSK9)) линия (Амаретта21х SSK9) показала себя как восстановитель фертильности с генотипом $C_N Rf Rf$. В четырех комбинациях, все растения проявляли нестабильность по завязыванию семян – от стерильных и слабо обсемененных до хорошо обсемененных плодов, из этого следует, что линии являются генисточниками по нестабильным аллелям, что, как правило, исключается из селекционной работы. В 3-х комбинациях наблюдали расщепление, с этими линиями работа продолжается с целью их стабилизировать и перевести ген *Rf* в гомозиготное состояние (таблица 2). По комплексу - хозяйственно ценных признаков выделившиеся линии имеют: конусовидную форму со средней массой плода (Самф325хАмаретта33) -170 г, (Амаретта21хSSK9) – 160 г, (Амаретта3хКреп312) – 125 г.

Таблица 2. Идентификация генотипов на наличие генов *Rf* и *гг*.

№	Гибриды	Тип гибридного растения	Обозначение	Тип тестируемого растения
88	S ₅ х (Самф325хАмаретта33)	1S; 3F	ген-источник	$C_N Rf rf$
89	S ₅ х (Амаретта33хКреп312)	4S/F; 1S; 3F	не стабилен	$C_N Mm$
92	msКуб1х (SSK9хАмаретта1)	2S/F; 2F; 2S	не стабилен	$C_N Mm$
93	msКуб1х (Амаретта21х SSK9)	2S/F; 2S; 2F	не стабилен	$C_N Mm$
94	msКуб1х (Амаретта21х SSK9)	2 F	восстановитель фертильности	$C_N Rf Rf$.
95	msКуб1х (SSK9хИветта1)	1S/F; 2S; 4F	не стабилен	$C_N Mm$
96	msКуб1х (Амаретта3хКреп31)	4S; 3F	ген-источник	$C_N Rf rf$
97	msКуб1х (Амаретта3хКреп312)	1S; 6F	ген-источник	$C_N Rf rf$

Выводы. Из 10 образцов, отобраны 4 биотипа: №99 (Самф325 х Амаретта33), №103-1(Амаретта21хSSK9), 106-3 (Амаретта3 х Креп312)F3, №105 (Амаретта3 х Креп312)F3 с признаками устойчивости к заболеванию черной бактериальной пятнистости, после искусственного заражения.

При тестировании 8 линий на ген *Rf* линии №88, №96, №97 показали себя гетерозиготами по гену *Rf*, а линия №94 – гомозиготой $-C_N Rf Rf$.

Линии (Самф325хАмаретта33), (Амаретта3хКреп31), (Амаретта21хSSK9) будут рассматриваться как перспективный материал в селекции на базе ЦМС.

Библиографический список

1. Королева С.В., Шуляк Н.В. Создание линий-восстановителей фертильности в селекции перца сладкого на основе ядерно-цитоплазматической мужской стерильности //Рисоводство. 2018. №. 4. С. 60-64.
2. Кружилин К.Ю. Бактериальная пятнистость перца и методы снижения её вредоносности // APKNews. 2019. № 14. С. 24-26. EDNZBIWSL.
3. Bingqiang W., Bosland P.W., Zhang Z., Wang Y., Zhang G., Wang L., Yu J. A predicted NEDD8 conjugating enzyme gene identified as a Capsicum candidate Rf gene using bulk segregant RNA sequencing, Horticulture Research, Volume 7. 2020. 210.
4. Jindal S.K., Dalival M.S., Mina O.P. Molecular advances in male infertility systems of capsicum: a review // Plant Breeding. 2020. Т. 139. No. 1.P. 42-64.