

УДК 638.138.1: 631.53.01

**ФЕНОМЕН ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ У ПОДСОЛНЕЧНИКА И ВОЗМОЖНЫЕ ПРИЧИНЫ ПОНИЖЕННОЙ ЗАВЯЗЫВАЕМОСТИ СЕМЯН В F<sub>2</sub> ГИБРИДОВ**

**Ольга Николаевна Воронова<sup>1</sup>, Юлия Игоревна Карабицина<sup>2</sup>,  
Наталья Владимировна Алпатьева<sup>2</sup>, Вера Алексеевна Гаврилова<sup>2</sup>,  
Ирина Николаевна Анисимова<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук,  
197376 Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова 2,

<sup>2</sup> Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова,  
190000 Санкт-Петербург, ул. Б. Морская 42, 44,  
E-mail: o\_voronova@binran.ru

Феномен ЦМС широко используют в селекции на гетерозис для контролируемого опыления при получении гибридных семян. У культурного подсолнечника *Helianthus annuus* L. для этих целей используют стерильные линии на основе ЦМС РЕТ1 и восстановители фертильности, несущие доминантный аллель гена *Rf1*. У растений F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> гибридов от скрещиваний линии ВИР 116А (ЦМС РЕТ1) с восстановителем фертильности ВИР 195 изучили характер изменчивости показателей фертильности пыльцы. Степень дефектности пыльцы (СДП) вычисляли как отношение дефектных пыльцевых зерен к общему числу посчитанных (в %) и оценивали изменчивость этого показателя в расщепляющихся популяциях. Установлено, что растения, относящиеся к фенотипическому классу «фертильные», могут иметь разные показатели СДП. Выявлены значительная гетерогенность популяции F<sub>2</sub> по признаку качества пыльцы и тенденции к выравниванию показателей в F<sub>3</sub>. Отмечено снижение качества пыльцы у сегрегантов F<sub>2</sub>, обладающих материнским вариантом STS-маркера аллелей генов в локусе *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>*. СДП растений, скорей всего, определяется генотипом растения (спорофита), а не аллельным составом генов пыльцы (мужского гаметофита).

**Ключевые слова:** *Rf* гены; частичная фертильность; степень дефектности пыльцы

**Введение**

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) – передаваемый по материнской линии признак, выражающийся в неспособности растений участвовать в процессе опыления в результате генетически детерминированных нарушений развития мужского гаметофита. В большинстве случаев у растений с ЦМС пыльца нежизнеспособна (стерильна), либо отсутствует. Фенотип ЦМС также может выражаться в недоразвитии и различных дефектах пыльников, препятствующих их растрескиванию. ЦМС возникает в результате отдалённых межвидовых и внутривидовых скрещиваний и, как правило, ассоциирована с абберантными (часто химерными) генами, возникшими в результате перестроек митохондриального генома. Проявляется ЦМС при взаимодействии таких генов с определёнными (чаще – рецессивными) аллелями ядерных генов, называемых генами восстановления фертильности (*Rf*). Растения с ЦМС могут быть обнаружены в природных популяциях либо получены путём отдалённой гибридизации [7, 9, 14].

Генетические системы ЦМС-*Rf* служат основой для практической реализации эффекта гетерозиса в семеноводстве промышленных гибридов кукурузы, риса, сорго, рапса и других культур. Линии с ЦМС используют в качестве материнских форм для контролируемого опыления при получении гибридных семян. Так, при производстве семян подсолнечника *Helianthus annuus* L. – основной масличной культуры в России и занимающей четвёртое место в мире – в настоящее время используют

высокопродуктивные, устойчивые к вредным организмам гетерозисные гибриды. Из литературных источников известно около 70 различных источников ЦМС подсолнечника. Однако до сих пор используется преимущественно РЕТ1, полученный французским учёным П. Леклерком в результате скрещивания однолетнего дикого вида *H. petiolaris* ssp. *fallax* Nutt. с сортом культурного подсолнечника Армавирский 9345 [11]. Для восстановления мужской фертильности растений F<sub>1</sub>, в генотип гибрида от отцовской линии должен быть перенесён ядерный ген *Rf1*, впервые обнаруженный М. Кинманом у линии Т66006-2-1-В (*H. annuus*) [10].

Ген *Rf1* находится в группе сцепления 13 генома подсолнечника. В том же плече хромосомы 13 картирован кластер генов *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>*, определяющих устойчивость подсолнечника к большому числу рас фитопатогена *Plasmopara halstedii* (Farl) Berl. & De Toni) возбудителя вредоносного заболевания – ложной мучнистой росы подсолнечника [6].

Ранее был изучен характер совместного наследования признака восстановления фертильности пыльцы (контролируется геном *Rf1*) и профилей STS-маркера Ha-P1, специфичного для локуса *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>*, в потомствах от скрещиваний линии ЦМС ВИР 116А с тремя линиями – восстановителями фертильности пыльцы из генетической коллекции подсолнечника Всероссийского института генетических ресурсов растений (ВИР). В каждой из трёх комбинаций скрещиваний определяли частоту рекомбинации между двумя локусами, *Rf1* и *Pl<sub>5</sub>/Pl<sub>8</sub>* [5]. По результатам анализа расщепления в двух популяциях F<sub>2</sub> гибридов ВИР 116А × ВИР 195 частота рекомбинации составила 13,56 и 20,4%. При данных значениях генетического расстояния предполагалось появление шести фенотипических классов F<sub>2</sub>, однако рекомбинантный гомозиготный класс (стерильных растений с отцовским вариантом *p* маркера) не был обнаружен, и число выявленных фенотипических классов было равно пяти. Предположили, что одной из причин нехватки рекомбинантного фенотипического класса могла быть элиминация продуцируемых растениями F<sub>1</sub> гамет, несущих аллели *rf1* и *p* в результате их нежизнеспособности [5]. Для проверки этой гипотезы и было необходимо провести исследование мужского гаметофита – пыльцы.

Цитологическое исследование пыльцы, проведенное ранее на выборке из 36 растений одной из семей F<sub>2</sub> [5], в настоящей работе было расширено, добавлены данные по двум другим семьям и по поколению F<sub>3</sub>. Анализ полученных результатов и сопоставление более широкого круга данных и послужило основой представленной работы.

### Объект и методы исследования

**Гибридологический анализ.** Материнским родителем в скрещиваниях служила высокоинбредная линия ВИР 116А (к-3455), отцовской – ВИР 195 (к-3285). Скрещивания были выполнены на Кубанской опытной станции ВИР (Краснодарский край, Гулькевичский район) в 2011 г. Гибриды выращены на полях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» (С.-Петербург, Пушкин): F<sub>1</sub> – в 2013 г., популяции F<sub>2</sub> – в 2020 и 2023 гг., популяция F<sub>3</sub> – в 2023 г. Каждая из изученных семей F<sub>2</sub> являлась потомством одного гибридного растения F<sub>1</sub>, а семья F<sub>3</sub> – потомством гибридного растения F<sub>2</sub>. Расщепление гибридов F<sub>2</sub> по признакам фертильности/стерильности оценивали визуально на цветущих растениях: фертильными считались растения с нормально развитыми трубчатými цветками и пыльниками, несущими пыльцу, стерильными – растения у которых пыльца не обнаруживалась и пыльники были недоразвиты.

**Молекулярный анализ.** ДНК выделяли из выращенных в поле листьев 5-недельных растений с помощью модифицированного протокола, основанного на

использовании СТАВ-буфера. Для амплификации маркера На-Р1 использовали праймеры, разработанные О. Рэдвамом с соавторами [13]. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2%-ном агарозном геле.

**Цитологический анализ пыльцы.** В каждой из проанализированных семей  $F_2$  и  $F_3$  были взяты образцы пыльцы со всех доступных фертильных растений, всего обследовано в 2020 г.: 74 растения семьи 1 и 77 растений семьи 2  $F_2$  гибридов, в 2023 г.: 90 растений семьи 3  $F_2$  гибридов и 32 растения поколения  $F_3$  гибридов (полученных от растения семьи 2  $F_2$  гибридов) (табл. 1). С каждого растения было собрано не менее 10 трубчатых цветков.

Для оценки качества пыльцы использовался модифицированный ацетокарминовый метод окрашивания в сочетании с методом анализа данных путем построения вариационных кривых [3]. Под микроскопом анализировали по 10 полей зрения для каждого образца. Нормальными считали пыльцевые зерна преобладающего и слегка увеличенного размера с равномерно окрашенной цитоплазмой. К дефектным пыльцевым зернам были отнесены неокрашенные и неоднородно-окрашенные пыльцевые зерна всех размеров (со следами плазмоллиза и сжатой цитоплазмой), а также окрашенные зерна значительно меньшего размера (микрорпыльца). Степень дефектности пыльцы (СДП) вычисляли как отношение дефектных пыльцевых зерен к общему числу посчитанных пыльцевых зерен данного препарата (в %) [4].

Для нескольких вариантов, контрастных по показателю СДП, измеряли диаметр пыльцевых зерен и строили вариационные кривые по встречаемости пыльцевых зерен определенного диаметра. Пыльцевые зерна у подсолнечника слегка эллипсоидные, для расчетов мы использовали диаметр в наиболее широкой части пыльцевого зерна. Ранжирование в группы проводилось с шагом 2 мкм.

Подробное цитологическое исследование, фотографирование и измерение пыльцы осуществлялось с помощью микроскопа Axio Imager Z1, оснащенного цифровой фотокамерой, в программе ZEN 3.5 (blue edition) Расчеты, построение вариационных кривых и представление этих результатов в виде графиков осуществлялось с помощью пакета программ MS Excel.

### Результаты и обсуждение

Соотношение числа фертильных (продуцирующих пыльцу) и стерильных (не образующих пыльцу) растений в каждой и трёх проанализированных семей гибридов  $F_2$  (ВИР 116А × ВИР 195) и в семье  $F_3$  оказалось близким к менделевскому расщеплению 3 (фертильных): 1 (стерильных) (табл. 1). Такие результаты можно ожидать в случае, когда гибридное растение, при самоопылении которого была получена расщепляющаяся популяция гибридов  $F_2$  или  $F_3$ , было гетерозиготным по аллелям локуса, детерминирующего изучаемый признак, т.е. восстановление фертильности пыльцы. Известно, что гибриды  $F_1$  от скрещивания ЦМС-линии подсолнечника, обладающей цитоплазмой РЕТ1, с отцовской фертильной линией продуцируют пыльцу (т.е. восстанавливают мужскую фертильность) при условии, если они получили от пыльцевого родителя доминантный аллель гена *Rf1* [6]. Линия ВИР 116А является носителем рецессивного аллеля *rf1*, а в генотипе линии ВИР 195 присутствует доминантный аллель *Rf1*, что ранее было подтверждено с помощью диагностических молекулярных маркеров [5]. Расщепление на фертильные и стерильные растения по фенотипу (признак фертильность/стерильность) в семье  $F_3$  можно объяснить тем, что растение  $F_2$ , от самоопыления которого она получена, было гетерозиготным по аллелям локуса *Rf1*.

Таблица 1

**Расщепление по признакам фертильности/стерильности  
в F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> гибридов ВИР 116А × ВИР 195**

Комбинация скрещивания	Число растений с фенотипом			$\chi^2$ для теоретического соотношения 3:1*	p-value
	MF	MS	всего		
ВИР 116А × ВИР 195, F <sub>2</sub> семья 1	74	24	98	0,01	0,90
ВИР 116А × ВИР 195, F <sub>2</sub> семья 2	77	18	95	1,86	0,17
ВИР 116А × ВИР 195, F <sub>2</sub> семья 3	90	34	124	0,39	0,53
ВИР 116А × ВИР 195, F <sub>3</sub> (потомство гетерозиготного растения F <sub>2</sub> из семьи 2)	32	14	46	0,72	0,39

\*df= 1,  $\chi^2_{05} = 3,84$

**Примечание:** MF – фертильные растения, MS – стерильные растения

Пыльцевой анализ убедительно продемонстрировал, что среди фертильных по фенотипу гибридных растений F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> существует значительное разнообразие по качественным и количественным признакам пыльцы: ее окрашиваемости, выполненности, наличию дефектов структуры и диаметру пыльцевого зерна. Эти признаки оценивались с использованием таких параметров, как СДП и распределение диаметров пыльцевых зерен в вариационных рядах (рис. 1).

Диапазон вариаций проявления указанных признаков укладывается в три класса: с СДП менее 25%, с СДП от 25 до 50%, с СДП более 50% (табл. 2).

Таблица 2

**Встречаемость растений с разной степенью дефектности пыльцы в семьях F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> гибридов  
ВИР 116А × ВИР 195.**

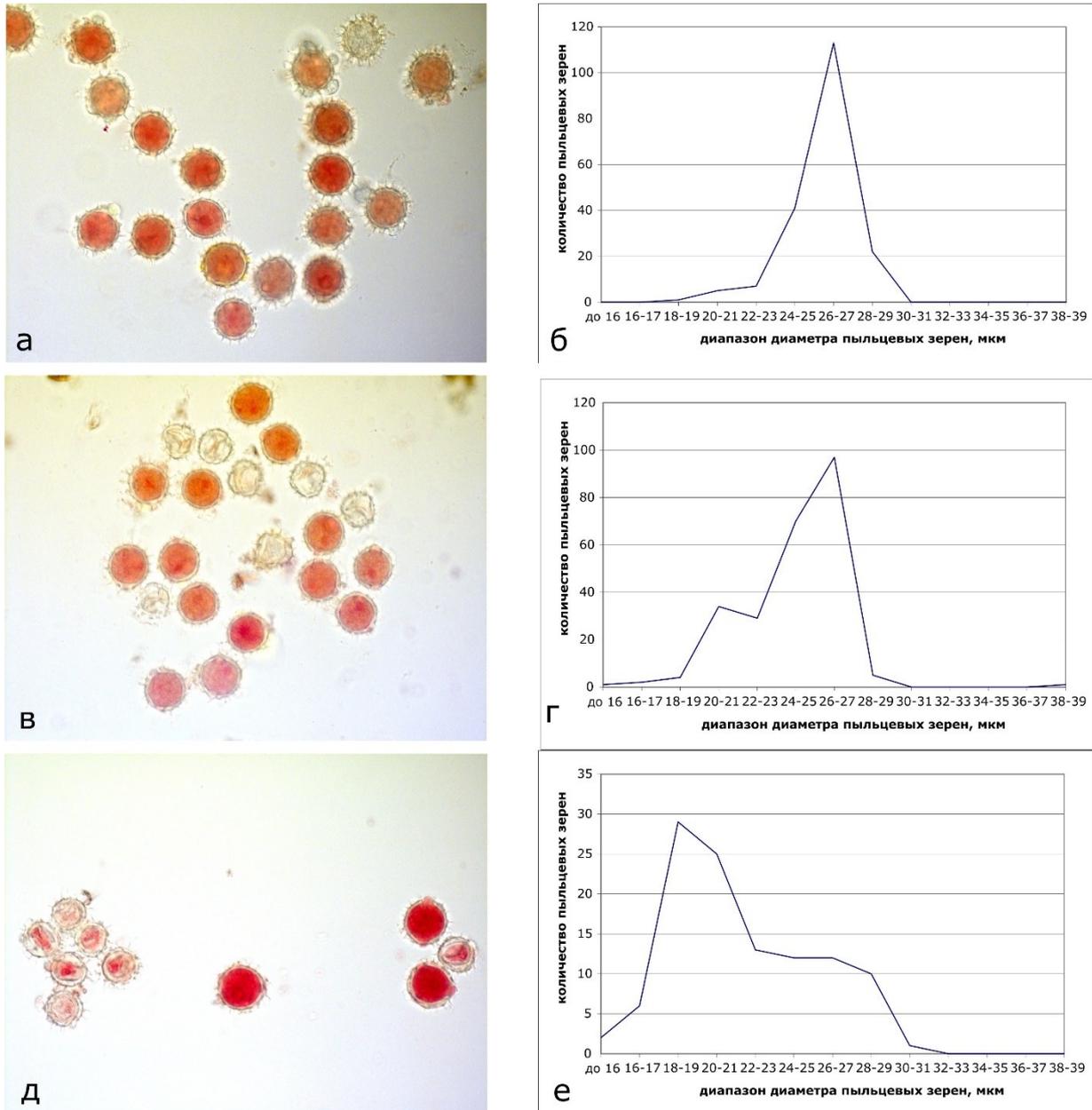
Комбинация скрещивания и год репродукции	СДП менее 25%	СДП от 25 до 50%	СДП более 50%	Всего растений, шт.
	в % от общего числа фертильных растений			
ВИР 116А × ВИР 195, семья 1 F <sub>2</sub> (2020 г.)	66,7	25,6	7,7	78
ВИР 116А × ВИР 195, семья 2 F <sub>2</sub> (2020 г.)	64,4	22,2	13,4	90
ВИР 116А × ВИР 195, семья 3 F <sub>2</sub> (2023 г.)	87,3	7,3	5,4	95
ВИР 116А × ВИР 195, F <sub>3</sub> (потомство гетерозиготного растения F <sub>2</sub> из семьи 2) (2023 г.)	94,4	5,6	0	36

К первому классу, мы отнесли растения с пыльцой хорошего качества у которых СДП ниже 25% (высоко фертильные растения), для них характерно, что вариационный ряд на графике имеет нормальное распределение с хорошо выраженным одним пиком (рис. 1а, б).

К следующей группе были отнесены растения со средним показателем СДП в 25-50% (средне фертильные растения), на графике становится заметно отклонение от нормального распределения, которое проявляется в виде дополнительных пиков или плато в левой части (рис. 1в, г), которые являются показателем того, что увеличивается доля более мелких и, как правило, стерильных или дефектных пыльцевых зерен.

В третью группу попали растения с пыльцой очень низкого качества, для которой показатель СДП был более 50% (низко фертильные растения). Для пыльцы растений этой группы характерна большая гетерогенность по диаметру, график распределения заметно отличается от нормального и, при значительном количестве дефектной пыльцы, появляются выступы с обеих сторон от центрального пика, а выступ слева может

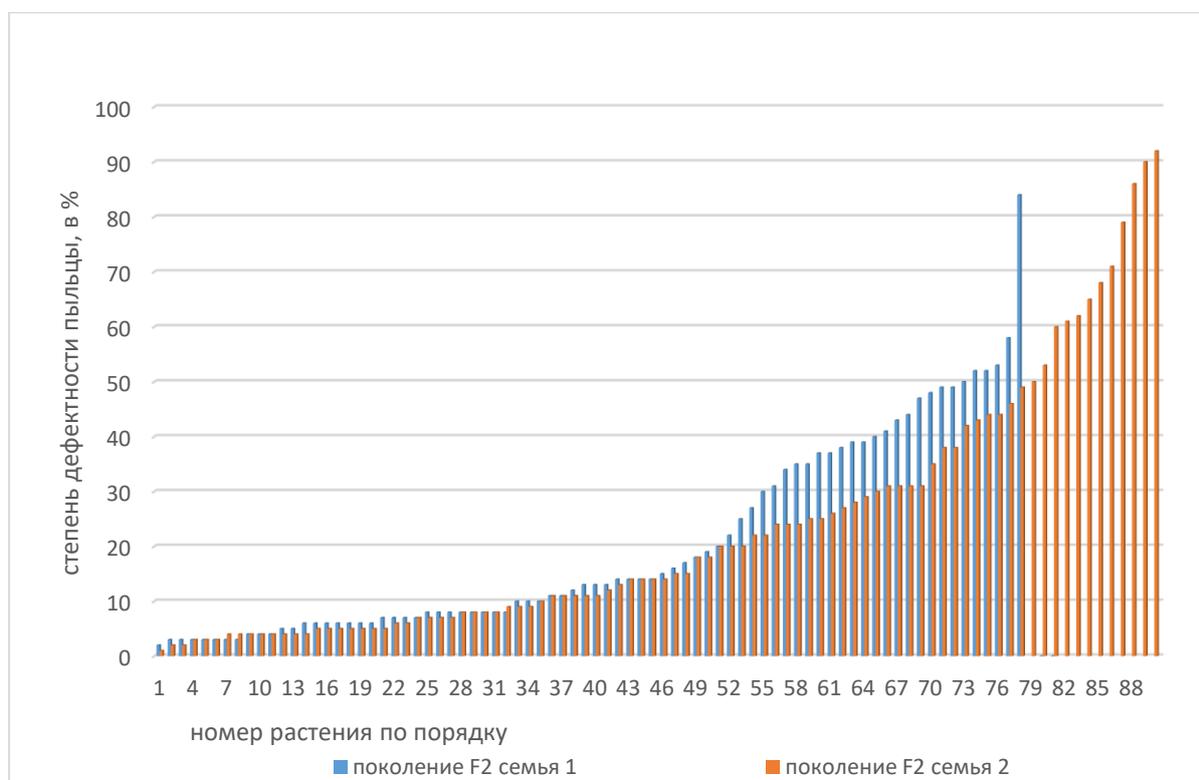
принимать вид второго пика, который, в ряде случаев, был сопоставим с центральным или даже превышал его (рис. 1д, е). Появление на графике выступов в правой и левой ее части связано с наличием гигантских пыльцевых зерен (макро-пыльцы) и совсем мелких пыльцевых зерен (микро-пыльцы), соответственно. Как правило, макро- и микро-пыльцевые зерна обнаруживается совместно, поскольку появляются в результате неправильного расхождения хромосом в мейозе, когда хромосомный материал распределяются между мегаспорами неравномерно.



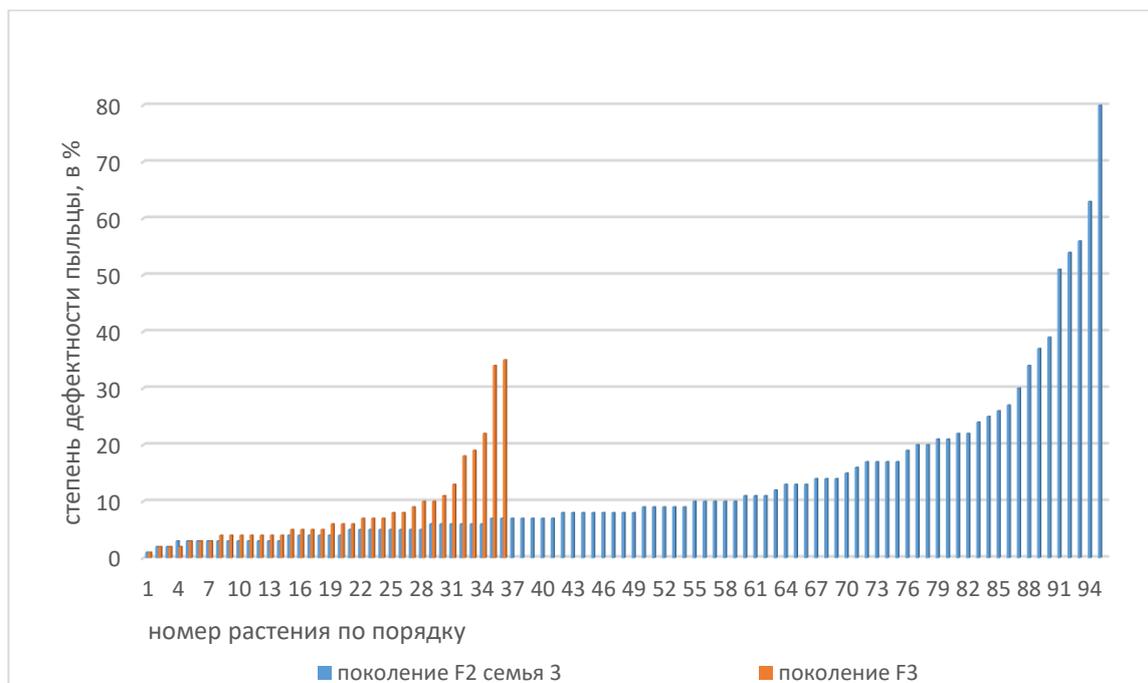
**Рис. 1** Пыльца растений F<sub>2</sub> гибридов ВИР 116А × ВИР 195: а, в, д – микрофотографии, б, г, е – вариационные кривые по диаметру пыльцевых зерен. а, б – растение с СДП 8%; в, г – растение с СДП 30%; д, е – растение с СДП 71%.

Заметна разница по распределению растений с разным уровнем СДП между растениями из семей 1 и 2, и семьи 3 поколения F<sub>2</sub>. В данном случае, поскольку эти популяции выращивались в разные годы (2020 и 2023), нельзя сбрасывать со счетов и возможность влияния погодных условий на качество пыльцы. Видно, что у исследуемых

растений СДП в целом была выше в 2020 г., по сравнению с 2023 г. (рис. 2, 3). Возможно, что в 2020 г. условия произрастания были менее благоприятными для подсолнечника, что и повлияло на качество пыльцы.



**Рис. 2** Распределение растений с разной СДП среди двух семей F<sub>2</sub> гибридов ВИР 116 × ВИР 195, 2020 г.



**Рис. 3** Распределение растений с разной степенью дефектности пыльцы среди популяций F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub> гибридов ВИР 116 × ВИР 195, 2023 г.

Обращает внимание, что в поколении  $F_3$  не были выявлены растения с высоким индексом СДП, и со средними показателями их также было минимальное количество. Большинство растений (87,3%) имели пыльцу хорошего качества, то есть произошло выравнивание по этому признаку, по сравнению с поколением  $F_2$ .

Ранее было изучено распределение показателей качества пыльцы в выборке из 36 растений  $F_2$ , сгруппированных в зависимости от спектра амплифицированных с парой праймеров  $Ha-P1-F/Ha-P1$ , специфичных для локуса  $Pl_5/Pl_8$  полиморфных фрагментов, контрастных у родительских форм и кодоминантно наследуемых у гибридов: материнского ( $m$ ), отцовского ( $p$ ) и гибридного ( $m/p$ ) [5].

Среди исследованных растений с  $m$  вариантом маркера (как у стерильной линии) менее половины (47,8% от общего количества фертильных растений) оказалось с низким показателем дефектности пыльцы, большинство растений имело пыльцу со средней и высокой СДП. Доля растений, характеризовавшихся качественной пыльцой, оказалась в полтора раза выше среди сегрегантов  $F_2$ , имевших маркер отцовского типа, и составила 71,8%. В группе растений с вариантом маркера  $m/p$  (тип  $F_1$ ) этот показатель был промежуточным (62,2%) (табл. 3).

Таблица 3

Распределение по группам с разной степенью дефектности пыльцы растений в семье 2  $F_2$  гибридов ВИР 116А × ВИР 195 с разными вариантами маркера  $Ha-P1$  (локус  $Pl_5/Pl_8$ ) (2020 г.)

Вариант маркера $Ha-P1^{**}$	СДП менее 25%,	СДП от 25 до 50%	СДП более 50%	Всего растений, шт.
	в % от общего числа фертильных растений			
$m$ (материнский)	47,8	39,1	13,1	23
$p$ (отцовский)	71,8	15,6	12,6	32
$m/p$ (гибридный)	62,2	26,8	11,0	82

В данной работе выборка была расширена до 137 растений, но общая картина распределения растений с разным качеством пыльцы сохранилась.

Увеличение СДП у гибридов, по сравнению с материнскими линиями, отмечалось для подсолнечника и ранее рядом авторов, которые описывали растения с частично восстановленной стерильностью или же выделяли внутри фенотипических классов (фертильные/стерильные) и переходные группы - «полустерильные» или «малопыльцовые» формы [1-3, 8, 11, 12].

Известно, что ген  $Rf1$  подсолнечника является эффективным восстановителем мужской фертильности гибридов  $F_1$ . Фертильность пыльцы гибридных растений  $F_1$ , полученных с участием стерильных линий на основе ЦМС РЕТ1, обычно высока; её показатель, оцениваемый по проценту окрашенных пыльцевых зёрен, варьирует незначительно и может достигать 90-100%. Именно благодаря такой особенности, генетическая система ЦМС- $Rf$  на основе стерильной цитоплазмы РЕТ1-типа практически повсеместно используется в гетерозисной селекции подсолнечника и, несмотря на значительные усилия исследователей, альтернативные источники ЦМС и генов  $Rf$ , супрессирующих признак стерильности, пока не нашли практического применения [10].

Задача выяснения характера генетического контроля показателей качества пыльцы в связи с проблемой супрессии фенотипа ЦМС у *H. annuus* заслуживает специального исследования с привлечением методов репродуктивной биологии, классической и молекулярной генетики. В этой связи, в качестве модели для решения этой проблемы могут быть использованы расщепляющиеся популяции межлинейных гибридов, при изучении которых можно анализировать характер наследования не только

показателей фертильности пыльцы, но других генов, вовлечённых в контроль развития растений.

Ранее при анализе гибридов, полученных от скрещиваний линии ЦМС ВИР 116А с линиями – восстановителями фертильности, было показано, что в  $F_1$  вся пыльца выглядит качественной [8]. В поколении  $F_2$  наблюдается существенное снижение показателей фертильности пыльцы, увеличение степени её неоднородности, о чем свидетельствуют как результаты настоящего исследования, так и ранее опубликованные данные.

Ранее при анализе расщепления в  $F_2$  гибридов ВИР 116А × ВИР 195 по признакам фертильности/стерильности и вариантам спектров продуктов амплификации маркера На-Р1, разработанного для детекции аллелей локуса  $Pl_5Pl_8$ , определяющих устойчивость к возбудителю ложной мучнистой росы, мы обнаружили нехватку сегрегантов с рекомбинантным генотипом, включающим рецессивный аллель *rfl* гена восстановления фертильности (от линии ВИР 116А) и маркер, характерный для отцовской линии [5]. Одно из возможных объяснений этого факта заключается в различной жизнеспособности гамет с разным сочетанием аллелей гена *Rfl* и вариантов маркера На-Р1. Теоретически, в генеративной фазе в результате мейоза у растений изучаемых гибридов  $F_1$  формировались четыре типа женских и мужских половых клеток (гамет), которые несли в различных сочетаниях доминантный или рецессивный аллель гена восстановления фертильности, а также отцовский или материнский варианты маркерной последовательности. Однако это предположение не поддерживается данными о хорошем качестве пыльцы, которую продуцируют растения  $F_1$ . Следовательно, можно сделать заключение о решающей роли спорофита в генетическом контроле показателей фертильности пыльцы у гибридных растений. Об этом свидетельствует и выявленная в ходе исследования тенденция к пониженному уровню фертильности пыльцы у генотипов  $F_2$ , гомозиготных по вариантам последовательностей сцепленного с геном восстановления фертильности локуса  $Pl_5/Pl_8$ .

### Заключение

При анализе расщепления в семьях  $F_2$  и  $F_3$  гибридов от скрещивания линии ЦМС ВИР 116А с линией ВИР 195 по признаку восстановления фертильности пыльцы подтверждён моногенный характер его наследования.

Результаты цитологического анализа показали, что среди гибридных растений  $F_2$  и  $F_3$ , отнесенных к фертильному фенотипу, признаки качества пыльцы (СДП и диаметр пыльцевых зерен) могут иметь значительную гетерогенность с тенденцией к выравниванию по этому признаку в поколении  $F_3$ . Диапазон изменчивости по СДП был от 1 до 92%.

При совместном цитологическом и молекулярном анализе выявлена тенденция к снижению качества пыльцы у растений из популяции  $F_2$  гибридов ВИР 116А × ВИР 195, характеризующихся материнским типом спектра продуктов амплификации STS-маркера На-Р1, специфичного для локуса  $Pl_5/Pl_8$ , контролирующему устойчивость к возбудителю ложной мучнистой росы подсолнечника *Plasmopara halstedii*.

Таким образом, растения, относящиеся к фенотипическому классу «фертильные», могут иметь разные показатели по качеству пыльцы, в том числе иметь высокий индекс СДП, что приводит к снижению завязываемости семян.

### Благодарности

*Гибридологические и молекулярно-генетические исследования выполнены в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по проекту № FGEM-2022-0005 «Растительные ресурсы масличных и прядильных культур ВИР как основа теоретических исследований и их практического использования».*

*Цитологические исследования осуществлялись на оборудовании Центра коллективного пользования Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург) «Клеточные и молекулярные технологии изучения растений и грибов», в рамках государственного задания «Поливариантность морфогенетических программ развития репродуктивных структур растений, регуляция морфопроецессов in vivo и in vitro» (2024-2028), № 24013100862-0.*

### Список литературы

1. Анащенко А.В., Дука М.В. Фенотипическое проявление генов Rf у подсолнечника и некоторые данные о природе растений с частично восстановленной фертильностью // Науч. техн. бюлл. ВИР. – 1985. – Вып. 154. – С. 3-7.
2. Воронова О.Н., Толстая Т.Т., Рожкова В.Т., Гаврилова В.А. Определение фертильности пыльцы у ряда диких многолетних видов и образцов подсолнечника из коллекции, произрастающей на Кубанской станции ВИР // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2011. – Т. 167. – С. 145-158.
3. Воронова О.Н., Гаврилова В.А. Количественный и качественный анализ пыльцы подсолнечника (*Helianthus L.*) и его использование в селекционной работе // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2019. – Т. 180. – № 1. – С. 95-104. DOI: 10.30901/2227-8834-2019-1-95-104
4. Хохлов С.С., Зайцева М.И., Куприянов П.Г. Выявление апомиктических форм во Флоре апомиктических растений СССР. Программа, методика, результаты. – Изд-во Саратовского университета. – 1978. – 224 с.
5. Anisimova I.N., Alpatieva N.V., Voronova O.N., Gavrilova V.A., Karabitsina Yu.I., Kuznetsova E.B., Radchenko E.E. A recombination suppressed region of sunflower (*Helianthus annuus L.*) linkage group 13 covers restoration of fertility (Rf1) and downy mildew resistance (Pl) gene clusters // Russian Journal of Genetics. – 2023. – Vol. 59. – No 5. – P. 453-465. DOI: 10.1134/S1022795423050022
6. Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower hybrid breeding: from markers to genomic selection // Frontiers in Plant Science. – 2018. – Vol. 17. – № 8. DOI: 10.3389/fpls.2017.02238
7. Gautam R., Shukla P., Kirti P.B. Male sterility in plants: an overview of advancements from natural CMS to genetically manipulated systems for hybrid seed production // Theoretical and Applied Genetics. – 2023. – Vol. 136. – No 9. DOI: 10.1007/s00122-023-04444-5. PMID: 37606708
8. Karabitsina Y.I., Gavrilova V.A., Alpatieva N.V., Kuznetsova T.B., Anisimova I.N. Peculiarities of inheritance of pollen fertility restoration trait in sunflower with cytoplasmic male sterility // Russian Journal of Genetics. – 2019. – Vol. 55. – No 11. – P. 1375-382. DOI: 10.1134/S1022795419110073
9. Kaul M.L.H. Genic male sterility. In: Male sterility in higher plants. Monographs on Theoretical Applied Genetics. – Springer, Berlin, Heidelberg Berlin, 1988. – Vol. 10. DOI: 10.1007/978-3-642-83139-3
10. Kinman M.L. New developments in the USDA and state experiment station sunflower breeding programs. In: Proceedings of the 4th International Sunflower Conference, Memphis, TN, USA. – 1970. – P. 181-183.
11. Leclerq P. Une sterilité cytoplasmique chez le tournesol // Annales de l'Amélioration des Plantes. 1969. – Vol. 19. – № 2. – P. 99-106.

12. Kováčik A., Sýkorová O. Comparison of the germinability of sunflower pollen in vivo and the results of tests for pollen viability // Sbornik UVTIZ, Genetika a Slechteni. – 1979. – Vol. 14. – No 2. – P. 81-86

13. Radwan O., Bouzidi M.F., Nicolas P. Mouzeyar S. Development of PCR markers for the *Pl5/Pl8* locus for resistance to *Plasmopara halstedii* in sunflower, *Helianthus annuus* L. from complete CC-NBS-LRR sequences // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Vol. 109. – P. 176-185. DOI: 10.1007/s00122-004-1613-0

14. Rieseberg L.H., Blackman B.K. Speciation genes in plants // Annals of Botany. – 2010. – Vol. 106. – No 3. – P. 439-455.

*Статья поступила в редакцию 10.05.2024 г.*

**Voronova O.N., Karabitsyna Yu.I., Alpatieva N.V., Gavrilova V.A., Anisimova I.N. Phenomenon of cytoplasmic male sterility in sunflower and possible causes of reduced seed setting in F<sub>2</sub> hybrids** // Bull. of the State Nikita Botan. Gard. – 2024. – № 153. – P. 97-106

The phenomenon of CMS is widely used in breeding for heterosis for controlled pollination in the production of hybrid seeds. For this purpose, *Helianthus annuus* L. sterile lines based on the CMS PET1 genotype and fertility restorers carrying the dominant Rf1 allele are used. The nature of variability in pollen fertility in plants of F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> hybrids obtained from crosses between the VIR 116A line (CMS PET1) and the fertility restorer, VIR 195 was studied. The degree of pollen deficiency (DPD), calculated as the ratio of defective pollen grains to the total number of counted ones (in %), was also estimated, as well as the variability of this indicator within splitting populations. The degree of pollen defectiveness (DPD) was calculated as the ratio of defective pollen grains to the total number of counted ones (in %) and the variability of this indicator in splitting populations was estimated. It was found that plants belonging to phenotypic classes "fertile" can have different DPD indicators. Significant heterogeneity in the F<sub>2</sub> population based on pollen quality with a tendency to equalize indicators in F<sub>3</sub> was revealed. A decrease in pollen quality was noted in F<sub>2</sub> segregants possessing the maternal variant of the STS marker of gene alleles at the *Pl5/Pl8* locus. The DPD of plants is most likely determined by the genotype of the plant (sporophyte), and not by the allelic composition of pollen genes (male gametophyte).

**Key words:** *Rf1* genes; partial fertility; degree of pollen defectiveness