Тема 2.5.2. Методика виробництва гетерозисного насіння

1. Використання цитоплазматичної чоловічої стерильності в одержанні гібридного насіння.
2. Методика виробництва гетерозисного насіння.
3. Проблема закріплення гетерозису.

1. *Використання цитоплазматичної чоловічої стерильності в одержанні гібридного насіння.*

При вирощуванні гібридного насіння для виробничого посіву батьківські форми, які забезпечують при схрещуванні ефект гетерозису, висівають рядами, чергуючи материнські й чоловічі форми. Гетерозисне насіння F_1 збирають тільки з материнської форми. Для забезпечення запилення материнських форм пилком чоловічих рослин на материнських потрібно видалити з квіток пиляки або чоловічі квітки, або їх суцвіття. У рослин з дрібними двостатевими квітками, особливо самозапильних, виконати цю операцію в такому масштабі, щоб мати промислове насіння, практично неможливо. На перших етапах практичного використання гетерозисного насіння, наприклад кукурудзи, чоловічі суцвіття на материнських рослинах видаляли вручну.

Явище ЦЧС виявлене у жита, пшениці, кукурудзи, томатів, цукрових буряків, цибулі та багатьох інших рослин. Воно полягає в тому, що в популяціях рослин з двостатевими або роздільностатевими квітками знаходять спонтанні мутанти із стерильними чоловічими статевими органами. Жіночі генеративні органи таких рослин функціонують нормально. Стерильність, викликану стійкими спадковими змінами цитоплазми, називають цитоплазматичною.

Може скластись враження, що ЦЧС-форми – це "помилки природи", які не заслуговують на увагу. Але насправді ЦЧС гарантує надзвичайно біологічно корисне перехресне запилення. У виробництві ця гарантія перезапилення ЦЧС-форм широко використовується для масового отримання дешевого гібридного насіння. Звичайно, рослини з чоловічою стерильністю і в природі, і в практиці можуть бути лише материнськими формами гібридів, тому що чоловіча функція в них паралізована.

Суть явища цитоплазматичної чоловічої стерильності розглянемо на прикладі кукурудзи – добре відомої однодомної рослини з роздільностатевими квітками. На сьогодні описано кілька типів стерильності цієї культури. Найважливішими з них є два: техаський та молдавський. У рослин із техаським типом стерильності пиляки містять нежиттєздатний (стерильний) пилок, а рослини молдавського типу можуть утворювати в пиляках незначну кількість пилку, але пиляки не розтріскуються.

Після узагальнення проведених експериментів з вивчення успадкування ЦЧС вчені прийшли до висновку, що стерильність виникає внаслідок взаємодії цитоплазми і ядерних генів. Стерильна цитоплазма, що зумовлює стерильність пилку, позначається як цитs, а нормальна (забезпечує утворення

нормального пилку) – як цитn. Ознака ЦЧС успадковується по материнській лінії. Зв'язок явища ЦЧС з конкретними цитоплазматичними структурами ще не встановлений.

Переважна більшість сортів та інцухт-ліній кукурудзи при схрещуванні з ЦЧС-формами дають стерильне потомство. Тоді їх називають закріплювачами стерильності. Навіть тоді, коли всі хромосоми гібридів будуть заміщені хромосомами закріплювача (добитись цього можна шляхом насичуючих схрещувань), потомство буде стерильним. В цьому випадку ознака стерильності успадковується по материнській лінії протягом безмежної кількості поколінь. Закріплювачі стерильності у ядрі містять рецесивні гени, які не пригнічують ознаку ЦЧС. Генотип закріплювачів позначають як rfrf.

Найповніше вивчена природа ЦЧС, яка виявляється при взаємодії стерильної цитоплазми (цит S) і рецесивних (rfrf) генів ядра (Рис. 3).

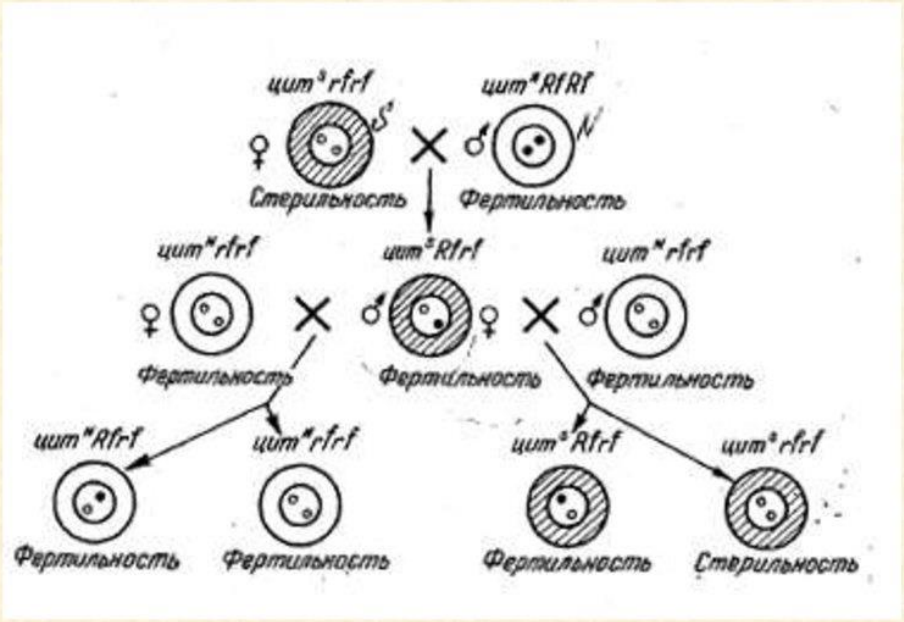


Схема успадкування цитоплазматичної чоловічої стерильності: цитоплазма цитS - стерильна, цитN - нормальна, Rf - ген-відновлювач фертильності пилка.

Рис. 3. Схема успадкування цитоплазматичної чоловічої стерильності

Схрещування рослин з ЦЧС і закріплювача стерильності можна записати таким чином:

цитsrfrf × цитn rfrf
(стерильна форма) (фертильна форма, закріплювач)
F1 цитsrfrf
(стерильні гібриди)

Стерильна цитоплазма (цит s) зумовлює стерильність пилку тільки за наявності в генотипі рослини рецесивних генів rf у гомозиготному стані цитs

rfrf. Якщо ген – відновник фертильності представлений хоча б одним домінантним алелем Rf, то рослини цитs RfRf і цитs Rfrf будуть фертильними. Фертильними також будуть рослини з рецесивними генами rfrf, але нормальною цитоплазмою цитn rfrf.

Окремі сорти та лінії (їх мало) мають у своєму ядрі домінантний ген, що пригнічує ознаку ЦЧС. При схрещуванні їх із стерильними рослинами потомство буде фертильне. Такі форми називають відновниками фертильності; їхній генотип позначають як RfRf. Отже, цитоплазматичні фактори стерильності проявляють свою дію лише в поєднанні з рецесивними алелями цього гена (цитsrfrf – завжди стерильні), а домінант Rf ліквідує дефект, обумовлений стерильною цитоплазмою (рослини цитsRfRf та цитsRfrf завжди фертильні). Схрещування цитsrfrf х цитsRfrf дасть половину стерильних і половину фертильних за пилком рослин.

Розглянутий приклад успадкування ЦЧС є одним із найпростіших. В інших випадках генетичні системи ЦЧС зумовлюються взаємодією цитоплазматичних факторів з двома-трьома ядерними генами і характер успадкування ускладнюється.

Детальне вивчення ЦЧС, виявлення закріплювачів стерильності та відновників фертильності дали змогу широко використовувати це явище для масового отримання гетерозисного гібридного насіння багатьох видів рослин без ручної кастрації квіток на материнських рослинах.

Використання ЦЧС у селекції на гетерозис. Найбільших успіхів досягнуто в таких культурах (кукурудза, сорго, соняшник, цукрові буряки).

Стерильні рослини трапляються безпосередньо в сортах популяцій, а також внаслідок схрещувань рослин у межах виду і при віддаленій гібридизації.

Типи ЦЧС у кукурудзи: техаський, молдавський, парагвайський, болівійський.

2. Методика виробництва гетерозисного насіння.

Для того, щоб отримати гібридне насіння кукурудзи, висівають її материнську і батьківську форми в співвідношенні 3 до 1.

Рослини материнської форми запилюють пилком батьківської форми. На материнській формі утворюються качани з насінням першого покоління гібриду F_1. Це і є кінцевий продукт, який можна купити після його доопрацювання.

Отже, процес насінництва передбачає чотири складові:

по-перше – це створення і розмноження самозапильних ліній;

далі необхідно виробити і розмножити насіння батьківських форм;

потім з батьківських форм випрощують насіння першого покоління;

Метод отримання гібридного насіння кукурудзи без видалення волоті на основі ЦЧС розпочали застосовувати на початку 50-х років минулого століття. Для створення гібридів кукурудзи на стерильній основі необхідно:

1. Стерильні аналоги самозапильних ліній;
2. Лінії – закріплювачі стерильності;
3. Лінії – відновники фертильності.

Стерильні аналоги створюються методом насичуючих схрещень. Аналоги відновники фертильності: на фертильній основі, на стерильній основі і комбіновані.

У кукурудзи використовується чотири типи ЦЧС:

- Техаський – Т;
- Молдавський – М;
- Парагвайський – С;
- Болівійський – Б.

Комплементарні гени Rf1 і Rf2 є відновниками фертильності Т – типу; Ген Rf 3 – М –типу;

Гени Rf 4, Rf 5, Rf 6 – С – типу;

Ген - Rf var – Б – типу ЦЧС.

Закріплювачем стерильності називають лінію, при запиленні пилком якої стерильність зберігається. Наприклад лінія ВІР 38 – закріплювач молдавського типу стерильності, а лінія ВІР 26 – закріплювач стерильності техаського типу.

Стерильні аналоги материнських форм гібридів створюють методом повторних насичувальних схрещувань (бекросів). Для переведення фертильної материнської форми гібрида (це може бути лінія, сорт або простий гібрид) на стерильну основу потрібно стерильну форму (назвемо її умовно As), знайдену селекціонером, запилити пилком тієї форми, яку потрібно перевести на стерильну основу.

Наприклад, простий міжлінійний гібрид кукурудзи Дніпровський 758 ТВ створено схрещуванням ліній ДС-103ТхА619ТВ. Материнською формою цього гібрида є лінія ДС-103. Щоб мати стерильний аналог цієї лінії, потрібно стерильну форму запилювати пилком лінії ДС-103.

Деякі самозапильні лінії під час схрещування із стерильними формами відновлюють їхню фертильність. Такі лінії називаються відновниками фертильності.

Якщо лінія не володіє відновлювальною здатністю, її можливо створити штучно. Створення відновників на фертильній основі ґрунтується на методі насичувальних схрещувань (бекросу). Знайдений відновник фертильності запилюють пилком потрібної селекціонеру лінії або сорту (назвемо її А).

Насичувальні схрещування проводяться доти, доки не буде досягнуто потрібної морфологічної подібності між продуктом насичувальних схрещувань і оригінальною лінією А. Здебільшого цього досягають в 5-6-му поколінні.

Одночасно з другого бекросу кожну рослину перевіряють на відновлювальну здатність, запилюючи її пилком стерильної форми, для якої створюється відновник. Для подальшого насичування використовують рослини, які забезпечують в аналізуючому схрещуванні найбільший вихід фертильних рослин. Потреба ведення одночасно з насичувальними схрещуваннями, схрещувань з перевірки відновлювальної здатності ускладнює цей метод.

3. *Проблема закріплення гетерозису*.

Сучасні методи селекції та насінництва сільськогосподарських культур дозволяють цілеспрямовано використати ефект гетерозису лише в гібридів першого покоління. Проблема розробки методів закріплення гетерозису в селекції рослин є досить актуальною та її успішне вирішення дозволило б збільшити можливості сільськогосподарського виробництва. У рослин, які розмножуються вегетативно ця проблема вирішується шляхом розмноження вегетативним органами (бульбами, живцями, кореневищами, цибулинами).

У рослин, які розмножуються насінням, найефективнішими способами закріплення гетерозису є такі:

- апоміксис (завдяки чому виключається механізм розщеплення при утворенні насіння). Тому потомство апоміктів генетично повністю ідентичне материнським формам.

- поліплоїдія, амфідиплоїдія (шляхом переводу гібридів на поліплоїдний рівень розщеплення вдається уповільнити; гомозиготних форм у другому і наступних поколіннях виділяється менше, підтримується більш високий рівень гетерозиготності).

Алополіплоїди або амфідиплоїди – це подвоєння числа хромосом, привнесених у гібридну зиготу гаметами двох різних, але філогенетично близьких таксономічних видів і родів.

Апоміксис – це різні способи безстатевого розмноження рослин, утворення зародка без запліднення.

Вегетативне розмноження – характерне для рослин, в яких замість насіння утворюються повітряні цибулини, вусики, коренепаросткові пагони, бульби, які здатні сформувати організм нового покоління. Вегетативний апоміксис, як і статевий апоміксис забезпечує міцне закріплення, яке стабільно успадковується в нових поколіннях. Кращі особини вегетативних апоміктів, якщо вони характеризуються ефектом гетерозису використовуються, як родоначальники нового сорту. До таких видів рослин відносяться картопля, топінамбур, часник, суниця садова, ягідні та плодові види рослин. Усі види рослин, що розмножуються шляхом однієї із зазначених форм апоміксису, утворюють яйцеклітини з нередукованою соматичною кількістю хромосом, здатними забезпечити нормальний ембріональний розвиток без запліднення. Тому всі організми апоміктичного походження є матроклинними. Вони без будь-яких змін успадковують всі ознаки материнських організмів. Якщо ж внаслідок дії процесів мутагенезу або інших чинників серед рослин-апоміктів виникають особини зі сплеском гетерозису, то цей стан гібридної сили надійно закріплюється апоміксисом і стійко успадковується в поколіннях.

Гетерогенність – виникає завдяки утворенню дуплікацій, внаслідок чого подвоюється або і більш суттєво помножується доза кожного дуплікованого гена. Дуплікація це одна із форм хромосомних мутацій, які виникають у результаті хромосомних перебудов під впливом мутагенних та інших несприятливих чинників, їх також може спричинити нерівний кросинговер. Після дуплікації в кожній з двох гомологічних хромосом локалізовано по два алельних локуси А – генів. Будучи зчепленими, вони стабільно зберігають

своє положення в ряду поколінь, оскільки всі гамети за генами ідентичні. Це пояснюється тим, що кросинговер між А-а генами жодних змін у групи зчеплення не вносять. Тому, у процесі запліднення, наприклад у самозапильних рослин, злиття таких гамет відновлює гетерогенний стан організмів у нових поколіннях. Отже, завдяки дуплікаціям гетерозиготність переходить у гетерогенність. Якщо комбінації дуплікатних генів обумовлять сплеск гетерозису, цей гетерозиготний стан закріплюється механізмами гетерогенності і без згасання передається потомству.