

МЕТОДИ ТА СПЕЦИФІКА СЕЛЕКЦІЇ СТЕРИЛЬНИХ АНАЛОГІВ ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ

*Л. А. Ільченко, кандидат сільськогосподарських наук
ДУ Інститут зернових культур НААН України*

Розглянуто методи та особливості селекції стерильних аналогів кукурудзи, з'ясовано шляхи пришвидшеного їх отримання. Установлено, що процес насичення залежить від вибору джерела стерильності та добору сімей зі стійким проявом ЦЧС у потомстві. Наведено низку районованих гібридів, переведення материнських форм яких на стерильну основу стало необхідною умовою для впровадження їх у виробництво.

Ключові слова: *цитоплазматична чоловіча стерильність, закріплювач стерильності, стерильний аналог, лінія, бекрос, кукурудза.*

У кукурудзи виявлено декілька типів цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС), які контролюються генами цитоплазми та ядерними рецесивними генами гГ. Два з них: М (S) – молдавський та С – парагвайський широко визнані у сучасній селекції і насінництві [1, 2, 3]. Основні відмінності між ними не тільки спадкового характеру, а й за зовнішнім виглядом волотей, стерильність яких певною мірою визначається умовами навколишнього середовища.

Завданням практичної селекції є вивчення та впровадження у виробництво конкретних гібридних комбінацій, переведених на стерильну основу того чи іншого типу ЦЧС. Необхідною умовою вирішення даного питання є стерильність материнських компонентів майбутніх гібридів. Досягти повної стерильності можна штучним шляхом за наявності джерел ЦЧС та хороших закріплювачів стерильності. Ними вважаються лінії, які в схрещуваннях зі стерильними формами дають потомство без пиляків. За даними Л. Г. Огняник [4], закріплювачі стерильності М типу становлять 88 %, С – 8,8 %. Парагвайський тип характеризується більш високим процентом природних відновлювачів – 31,3 % порівняно з М типом (8 %). За інформацією А. Г. Горбачової [5], в дослідженому матеріалі виявлено 84,8 % повних закріплювачів та 4 % відновлювачів молдавського типу і відповідно 54 та 32 % С типу. В умовах зрощення частота появи ліній кукурудзи, які закріплюють М та С тип дорівнювала 72,5 та 30,3 % відповідно [6]. Серед представлених 25 константних ліній нашої колекції 8 виявилися закріплювачами обох типів, решта здатні закріплювати М тип та відновлювати С тип [3]. М. В. Капустян [7] оцінив 50 перспективних ліній за реакцією на ЦЧС і виділив з експериментальних зразків 27 закріплювачів стерильності та 4 відновлювачі фертильності молдавського типу.

Для ліній-закріплювачів, а їх більшість серед отриманих константних форм (відповідно до вказаних досліджень різних років), створюються стерильні аналоги. Залучення до гібридизації нових самозапилених ліній кукурудзи потребує перш за все з'ясування реакції кожної з них на ЦЧС, щоб правильно обрати найбільш придатний тип та встановити місце конкретної форми (материнська чи чоловіча) в схемі схрещування. На думку Л. Г. Огняник [4], наявність великої кількості ліній відновлювачів за С типом полегшує добір батьківських компонентів, однак обмежує роботу щодо материнських.

Мета наших досліджень – висвітлити особливості створення стерильних аналогів та показати доцільність існуючих методів для практичного використання в селекційному процесі.

Постійна робота зі створення стерильних аналогів проводиться в селекційному розсаднику. «Генетичний фон» з декількох тестерів кожного року дає можливість диференціювати самозапилені лінії за реакцією на ЦЧС та намітити шляхи їх практичного використання (табл. 1). Представлені форми чітко проявляли властивості закріплення стерильності (з) чи відновлення фертильності (в).

1. Класифікація ліній різних генетичних плазм за реакцією на стерильну цитоплазму

Лінія	Тип ЦЧС		Гетерозисна група
	М	С	
ДК315	з*	в**	Змішана
ДК365	з	в	Айодент
ДК402	з	в	Айодент
ДК445	з	з	БССС
ДК721	з	в	Айодент
ДК1825	з	з	Ланкастер-Mo17
ДК2064	з	в	Айодент
ДК2953	з	з	Ланкастер-Mo17
ДК2965	з	з	Ланкастер-Mo17
ДК2966	з	з	Ланкастер-Mo17 / Oh 43
ДК2980	з	з	Ланкастер-Mo17 / Oh 43
ДК3151	з	в	Змішана
ДК3810	з	в	Айодент
ДК4173	з	з	Айодент, БССС
ДК7337	з	в	Айодент
ДК7423	з	в	Айодент
ДК7408	з	в	Айодент
ДК7440	з	в	Айодент
ДК7457	з	в	Айодент
ДК7774	з	в	Айодент

* Закріплювач стерильності.

** Відновлювач фертильності.

Майже всі лінії з гетерозисної групи Айодент є природними відновлювачами С типу ЦЧС, тому використання їх як материнських форм гібридів можливе лише на базі М стерильної цитоплазми. Цінним селекційним показником для Айодент є швидка втрата вологи зерном після настання фізіологічної стиглості. З урахуванням основних селекційних ознак, в тому числі реакції на тип ЦЧС, група БССС є кращою материнською формою, а Айодент – батьківською при створенні гібридів скоростиглої кукурудзи, вважають С. І. Мустяца та С. І. Мистрець [8]. У наших дослідженнях лінії плазми Айодент використовуються в обох напрямках, залежно від групи стиглості вихідного матеріалу. Деякі самозапилені форми з робочої колекції, будучи закріплювачами обох типів, включені до програм зі створення стерильних аналогів як молдавського, так і парагвайського типів ЦЧС. Серед них ДК1825, ДК2965, ДК2966 і ДК2980 гетерозисної групи Ланкастер.

Отже, класифікація ліній різних генетичних плаз за реакцією на стерильну цитоплазму, є досить важливим етапом не тільки для синтезу штучних відновлювачів [3], а й селекції стерильних аналогів.

Зазвичай отримання стерильних аналогів здійснюється методом зворотних схрещувань або бекросу (англ. backcrossing, від back – знову і cross – схрещувати) протягом 5–7 років насичення і схематично має наступний вигляд:

1. (ДК411М х ДК410).
2. (ДК411М х ДК410) х ДК410.
3. (ДК411М х ДК410²) х ДК410.
4. (ДК411М х ДК410³) х ДК410 і так далі.

Порядковий номер означає рік роботи, ДК411М – стерильна лінія (джерело стерильності), ДК410 – лінія-закріплювач, для якої створюється стерильний аналог; (ДК411М х ДК410²) – материнський компонент для нового повторного схрещування з цифрою, яка відповідає кількості бекросів.

Однією з головних вимог, що висувається до стерильних аналогів, є повна стерильність рослин. Важливим елементом при цьому є добір в межах лінії на здатність до закріплення. Облік ступеня стерильності волотей протягом цвітіння здійснюється шляхом огляду останніх на ділянках селекційного розсадника. На наш погляд, найбільш

прийнятною є оцінка за класами, запропонована В. А. Гонтаровським [9]. Нижче приводяться перші два, які є актуальними для синтезу стерильних аналогів:

0 – повна стерильність, пиляки відсутні чи з'являються поодинокі з закритими порами;

клас 1 – повна стерильність, де фіксується значна чи масова поява стерильних пиляків. Для її визначення існує ще термін «кошлата» стерильність, характерна для молдавського типу.

Для повторних насичуючих схрещувань залучаються окремі сім'ї, бажано класу 0, з повною відсутністю пиляків. Для позначення стерильних форм кукурудзи до їхньої назви додаються великі букви М і С, які вказують відповідно на молдавський або парагвайський тип стерильності.

Результативність добору в межах лінії на закріплювальну властивість неоднакова і залежить від їх однорідності та генетичної природи. Контролювати стерильність сімей різних років насичення рекомендовано до закінчення робіт в селекційному розсаднику, щоб виключити випадки пізнього виходу фертильних пиляків на бокових гілочках в період всихання шовку качанів. Таке явище характерне для деяких форм С типу і в цілому залежить від умов навколишнього середовища та генотипу вихідного матеріалу [5]. Певні лінії молдавського типу в процесі бекросу теж мають неоднорідне потомство за стерильністю волоті, з'являються рослини з кошлатою стерильністю або частково фертильні. Дану проблему можна вирішити методом селекції парних сімей, розробленим Б. П. Соколовим і Н. М. Падалка [10] для сортів-популяцій, який модифіковано для інбредного матеріалу. Суть його полягає в тому, що окремі рослини лінії, яка є закріплювачем, не тільки самозапилюються, а й одно-часно залучаються до схрещувань з повністю стерильними зразками материнської форми. Два потомства, одне з яких отримано від нанесення пилку на приймочки стерильних рослин, а інше – як результат самозапилення (со) фертильної лінії, висіваються посімейно суміжними ділянками наступного року. Для точності їх реєструють, наприклад, схрещування – $1 \times 2so_1$, $1 \times 2so_2$, $1 \times 2so_3$, самозапилення – $2so_1$, $2so_2$, $2so_3$, де цифра 1 є номером рядка стерильної материнської форми, а 2 – рядком запилювача з порядковим номером самозапилених рослин. До дальшого процесу включають тільки ті інбредні лінії, які під час схрещування зі стерильними зразками мали стерильне потомство. Результативність роботи залежить від кількості ділянок (чим більше, тим краще) та постійного огляду волотей. Вказана методика використовувалась нами при створенні стерильних аналогів ліній ДК305, ДК424, ДК633/53 тощо.

У разі певних труднощів на шляху досягнення повної стерильності будь-якого покоління бекросу, створення аналога краще припинити або розпочати заново із залученням іншого джерела стерильності. Хоча для виключення такої ситуації, ефективніше залучати декілька джерел одночасно. Наприклад, переведення лінії ДК7774 на стерильну основу здійснювали одразу на базі двох стерильних форм – ДК301 та ДК410. Відомо [11], що прояв стерильності в аналогів М типу сильно залежить від факторів зовнішнього середовища (температури, вологості, строків сівби, тривалості світлового дня), тому робота з ними потребує більше зусиль та уваги.

З метою усунення негативного впливу на ефект гетерозису майбутніх гібридів, вибір джерела стерильності потрібно здійснювати на основі інформації про генетичне походження самозапилених форм. Важливо, щоб лінія-закріплювач, для якої створюється аналог, і донор стерильності належали до однієї зародкової плазми. Наприклад, для переведення лінії ДК777 на стерильну основу використали ДК257М – обидві належать до групи Айодент.

Основним критерієм вибору джерела стерильності є також максимальна біологічна та морфологічна його близькість з лінією, для якої він створюється. Важливо звертати увагу на тривалість вегетаційного періоду, консистенцію та забарвлення зерна і стрижня, форму качана, тип волоті та інші ознаки. Рекомендовано добирати для схрещувань

рослини з аналогічним забарвленням стрижня. Червоний колір зокрема є домінуючим і достатньо довго зберігається при повторних насичуючих схрещувань з білострижневою формою. Під час створення аналогів скоростиглих зразків зручніше залучати як джерело стерильності аналогічні форми. Особливістю використання пізньостиглих генотипів (в разі потреби) для переведення на стерильну основу матеріалу з більш коротким вегетаційним періодом є сівба останнього в два строки.

Починаючи з третього насичуючого схрещування необхідно вести добір таких стерильних рослин, які будуть найбільш близькими до оригінальної лінії не тільки за морфологічними ознаками, а й за інтенсивністю розвитку. Останнє є кращим показником наближення продукту насичення до оригіналу. За даними М. І. Хаджинова [12], за 5 та 6 років насичення висота рослин стерильного М аналога стає однаковою або менше висоти оригінальної лінії, що свідчить про практичне закінчення процесу. Слід зазначити, що інтеркалярний ріст у фертильних рослин триває до повного припинення цвітіння колосків на волоті, а у стерильних – припиняється після виходу приймочок. У зв'язку з тим, що волоть цвіте довше, ніж приймочки, фертильні рослини значно вищі за стерильні [1].

Існує можливість отримання стерильних аналогів і за умови синтезу аналогів-відновлювачів на стерильній цитоплазмі, оскільки в процесі схрещувань безперервно з'являються рослини двох типів – стерильні та фертильні. Однак при цьому є додаткова потреба в доборі серед сімей, які дають повне закріплення стерильності. Таку роботу доцільно проводити в кінці насичення, але за материнську рослину брати не фертильний, а стерильний зразок, з чітким фіксуванням інформації в журналі. Висівати бажано декілька рядків, щоб гарантовано отримати насіння необхідних форм. Зокрема, цим методом досягли повної стерильності молдавського типу в аналогів ліній ДК633/325, ДК6080. У такий спосіб слід завершувати отримання стерильної форми лінії ДК4538.

У цілому послідовна робота зі створення самозапиленних ліній та їх стерильних аналогів триває до 10 років. Тому невід'ємним завданням селекційно-дослідних установ є пошук пришвидшених методів переведення нових самозапиленних ліній на стерильну основу. Раніше ця проблема вирішувалась за рахунок теплиць та можливості отримання двох урожаїв в умовах південних районів колишнього СРСР. Зокрема, увага зосереджувалась на розбіжності реакції ліній на стерильну цитоплазму в різних гідротермічних умовах вирощування. Сьогодні практично всі закордонні селекційні фірми користуються зимовими розсадниками в країнах південної кулі та тропічної зони [13]. Роботу з одержання двох генерацій за один рік в Інституті сільського господарства степової зони розпочато в 1996 р. – зимові розсадники були закладені в Мексиці, Чилі, США (Гавайї). Ця практика триває і нині завдяки тісній співпраці із зарубіжними партнерами. Проте деякі лінії та сім'ї в процесі насичення, маючи здатність до закріплення в польових умовах посушливої зони Степу, в тропічному середовищі інколи частково або повністю її втрачають. У зв'язку з цим необхідно постійно дублювати матеріал, який надходить із зимового розсадника, шляхом висівання паралельними рядками попередніх бекросів. Особливо це стосується перспективних ліній. Зараз із залученням зимового розсадника створюються стерильні аналоги для таких інбредів, як ДК 1825, ДКД 2725, ДКД 2759, ДК2973, ДК3810, ДК4447, ДКД 9053 та ін.

Для скорішого переведення на стерильну основу нових самозапиленних ліній як варіант розглядається їх бекросування після другого чи третього самозапилення. Паралельно з насиченням можна вивчати комбінаційну цінність, обираючи для наступних схрещувань тільки кращі зразки. При цьому термін створення стерильного аналога скорочується на 2–3 роки [10]. Ми застосовуємо дещо іншу схему, залучаючи в процес насичення стерильну форму 3 або 4 бекросу як донора, коли потрібно перевести на стерильну основу сестринську лінію з відомою вже реакцією на ЦЧС (наприклад, ДК4447МЗ для ДК4454). Зазначимо, що близькоспоріднені генотипи можна використовувати для заміни батьківських компонентів у гібридах.

Заслугує уваги й метод андрогенезу, який до певного часу рідко використовувався через відсутність надійних способів масового отримання і диплоїдизації гаплоїдів. З виявленням у кукурудзи мутації *ig* [14] стало можливим реально вирішити дану проблему, виключаючи з досліджень традиційне насичення. Розроблена російськими вченими технологія прискореного процесу створення стерильних аналогів на базі застосування *in vivo* індукованих андрогенних гаплоїдів використовується поряд з методом бекросу [15].

Варто зазначити, що переведення гібридів кукурудзи на стерильну основу не має суттєвого впливу на врожайність рослин, проте існує специфічна взаємодія генотипу гібрида, типу цитоплазми, умов вирощування. А. Г. Горбачова [5] виявила відмінності в специфічній комбінаційній здатності оригінальних ліній та їх стерильних аналогів. У зв'язку з цим автор наголошує, що для отримання конкретної комбінації до тестхрещувань потрібно залучати не оригінальну лінію, а готовий аналог, щоб виключити можливість негативного впливу цитоплазми на врожай зерна. В наших дослідженнях у сприятливому 2008 р. середня врожайність стерильних і фертильних гібридів була практично однаковою – із незначною перевагою фертильних зразків (на 0,06 т/га), а в стресових 2009 і 2010 рр. вона була вищою на 0,21 та 0,18 т/га відповідно у стерильних форм. У цілому стерильні аналоги більш пізніх груп стиглості в стресові роки характеризувалися вищою врожайністю порівняно з фертильними.

2. Створені та зареєстровані стерильні аналоги (2014–2015 рр.)

Селекційна назва лінії	Рік реєстрації	Тип стерильності	Джерело стерильності	Гібрид, створений на стерильній основі
ДК216	2014	М	ДК744М	ДН Синевир
ДК285	2014	М	ДК257М	ДН Гетера, ДН Славиця
ДК315	2014	М	ДК257М	ДН Галатея, ДН Зоряна, ДН Корунд, ДБ Хотин, ДМ Бенефіс, ДМ Вікторія, ДМ Петрос, Марсер, Твіст
ДК402	2015	М	ДК411М	ДН Софія
ДК446	2014	М	ДК445М	ДН Аншлаг
ДК721	2015	М	ДК744М	ДН Арго
ДК772	2015	М	ДК777М	ДН Рубін, Редвайн
ДК777	2014	М	ДК257М	ДН Світязь
ДК7423	2015	М	ДК742М	ДН Орлик
ДК7337	2015	М	ДК257М	ДК Велес, Аргентум

В цілому можна зробити наступний висновок: отримання стерильних аналогів є безперервним та доволі успішним процесом, який постійно існує завдяки появі нових перспективних самозапиленних ліній. Підтвердженням ефективності селекції таких форм кукурудзи в Інституті є те, що майже всі гібриди, занесені до Державного реєстру сортів рослин, вирощуються на стерильній основі. Зареєстровані аналоги ЧЧС останніх (табл. 2), як і попередніх років, задіяні в програмах зі створення простих, простих модифікованих і трилінійних гібридів.

У практичне насінництво доцільно включати генотипи зі стерильною цитоплазмою різних типів, щоб виключити її одноманітність щодо ризиків розповсюдження хвороб і вразливості в стресових умовах. Тому зареєстровано також прості гібриди з участю стерильних форм С цитоплазми (Крос 222, Крос 253, Крос 281 та Крос 289), які є материнськими компонентами районованих та перспективних гібридів – Візаві, ДН Пивиха, ДБ Лада, ДН Гарант, Багрянний, ДН Рута, ДН Деметра.

Висновки. Отже, результативність процесу зі створення стерильних аналогів залежить від вибору джерела стерильності та добору сімей зі стійким проявом ЧЧС у потомстві. Важливим при цьому є використання декількох типів стерильної цитоплазми,

застосування різних методів, дотримання принципу гетерозисних моделей гібридів і скорочення терміну насичення за рахунок використання зимового розсадника.

Бібліографічний список

1. Особливості гібридів кукурудзи отриманих за схемою змішування / [Б. В. Дзюбецький, В. Ю. Черчель, Н. А. Боденко, Л. А. Ільченко] // Бюл. Ін-ту зерн. госп-ва УААН. – Дніпропетровськ, 2011. – № 40. – С. 11–14.
2. Черчель В. Роль селекції і насінництва у здоров'ї кукурудзи і продуктивності рослин / В. Черчель, І. Галечко, М. Кирпа // Здоров'я рослин: кукурудза (довідкове видання): [зб.]. – К., 2013. – С. 134–150. – (Серія “Сучасні технології АПК,,).
3. Ільченко Л. А. Особливості селекції аналогів-відновлювачів фертильності кукурудзи М і С типів ЦЧС / Л. А. Ільченко // Бюл. Ін-ту сіл. госп-ва степ. зони НААН. – Дніпропетровськ, 2013. – № 5. – С. 39–43.
4. Огняник Л. Г. Селекционно-генетическое изучение цитоплазматической мужской стерильности и использование в селекции и семеноводстве: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. с.-х. наук: спец. 06.01.05 “Селекция и семеноводство” / Огняник Л. Г. – Краснодар, 1999. – 27 с.
5. Горбачева А. Г. Селекционные и генетические аспекты использования цитоплазматической мужской стерильности кукурузы: дис. ... доктора с.-х. наук: 06.01.05 / Горбачева Анна Григорьевна. – С.-Петербург, 2007. – 235 с.
6. Костюченко В. И. Реакция самоопыленных линий кукурузы на ЦМС в условиях орошения / В. И. Костюченко, Л. И. Волошина, А. П. Олизько // Бюл. ВНИИ кукурузы. – Днепропетровск, 1991. – № 71. – С. 22–26.
7. Капустян М. В. Особливості цвітіння гібридів кукурудзи, створених на основі М-типу стерильності / М. В. Капустян // Сучасні аспекти селекції і насінництва кукурудзи, традиції та перспективи: Міжнар. наук-практ. конф., 10 верес. 2015 г.: тези доповідей. – Чернівці, 2015. – С. 25–26.
8. Мустяца С. И. Использование зародышевой плазмы гетерозисных групп БССС и Рейд Айодент в селекции скороспелой кукурузы / С. И. Мустяца, С. И. Мистрец // Кукуруза и сорго. – 2007. – № 6. – С. 8–12.
9. Гонтаровский В. А. Генетические основы использования цитоплазматической мужской стерильности в селекции гибридной кукурузы: автореф. дис. на соискание ученой степени доктора биол. наук: спец. 03.00.15 “Генетика” / В. А. Гонтаровский. – Х., 1986. – 47 с.
10. Соколов Б. П. Селекция кукурузы с использованием цитоплазматической мужской стерильности / Б. П. Соколов, Н. М. Падалка // Цитоплазматическая мужская стерильность в селекции и семеноводстве кукурузы. – К: Изд-во УААН, 1962. – С. 63–102.
11. Кабанова Е. М. Особенности проявления признаков стерильности и фертильности метелок у линий и гибридов кукурузы селекции КНИИСХ им. П. П. Лукьяненко / Е. М. Кабанова, В. В. Козакова, В. В. Нечаев // Междунар. науч.-исслед. журнал. – Екатеринбург, 2014. – Вып. 3 (22), ч. 1. – С. 83–84.
12. Хаджинов М. И. Цитоплазматическая мужская стерильность кукурузы и использование ее в селекции и семеноводстве / М. И. Хаджинов // Цитоплазматическая мужская стерильность в селекции и семеноводстве кукурузы. – К: Изд-во УААН, 1962. – С. 103–140.
13. Сатарова Т. Н. Кукуруза: биотехнологические и селекционные аспекты гаплоидии: [моногр.] / Т. Н. Сатарова, В. Ю. Черчель, А. В. Черенков. – Днепропетровск: Новая идеология, 2013. – 552 с.
14. Шацкая О. А. Использование модифицированной ig-системы для создания новых форм кукурузы с повышенным андрогенезом / О. А. Шацкая, В. С. Щербак // Генетика, селекция и технология возделывания кукурузы. – Майкоп: РИПО Адыгея, 1999. – С. 163–168.
15. Испытание гибридов кукурузы с участием стерильных аналогов, полученных методами беккросса и андрогенеза / [Франковская М. Т., Огняник Л. Г., Шацкая, М. Ф. Жуков] // Кукуруза и сорго. – 2009. – № 1. – С. 6–8.

