

УДК 633.15.631.52

UDC 633.15.631.52

ИДЕНТИФИКАЦИЯ САМООПЫЛЕННЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ ПО СОСТАВУ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ ВОССТАНОВИТЕЛЕЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ «С» ТИПА ЦМС

IDENTIFICATION OF MAIZE LINES ACCORDING TO THE CONTENT OF ALLELES OF «C» TYPE FERTILITY – RESTORER GENES

Кривошеев Геннадий Яковлевич
кандидат сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией
genaduiykrivosheev@mail.ru
ВНИИ зерновых культур, Россия, Ростовская область, г. Зерноград, ул. Научный городок, 3

Krivosheev Gennadiy Yakovlevich
Candidate of Agriculture Sciences, head of the laboratory, genaduiykrivosheev@mail.ru
FSBSI All – Russian Research Institute of Grain Crops named after I. G. Kalinenko, Nauchny Gorodok Str., 3, Zernograd, Russia

На основе анализа характера цветения тесткроссов, полученных от скрещивания со специально подобранными стерильными источниками (анализаторами) идентифицированы новые самоопыленные линии кукурузы по составу аллелей генов - восстановителей фертильности «С» типа ЦМС. Генотип линии РД 257 – rf₄rf₄rf₅rf₅Rf₆Rf₆ (класс II), генотип линии РД245 – rf₄rf₄Rf₅Rf₅rf₆rf₆ (класс III), генотип линии РД 274 - rf₄rf₄Rf₅Rf₅Rf₆Rf₆ (класс V), генотип линии РД 231 – Rf₄Rf₄rf₅rf₅Rf₆Rf₆ (класс VI), генотип линии РД 261 – Rf₄Rf₄Rf₅Rf₅Rf₆Rf₆ (класс VII). Выявление состава аллелей генов - восстановителей фертильности позволяет предвидеть характер цветения гибридного потомства, полученного от скрещивания самоопыленных линий с известным генотипом. Создан каталог самоопыленных линий кукурузы по генам восстановителям фертильности, в его состав включены 18 линий, изученные за все годы исследований. Выявлены линии, принадлежащие к I, II, III, V, VI, VII и VIII классам. Наибольший практический интерес при переводе гибридов кукурузы на стерильную основу представляют линии, принадлежащие к I и VIII классам. Самоопыленные линии KB204, СП 286 (класс I) являются надежными закрепителями «С» типа ЦМС. Потомства от скрещивания их с любыми стерильными формами характеризуются полной стерильностью. Новые самоопыленные линии KB 498, KB 272, KB 227, СП 357, РД 261 (класс VIII) относятся к константным естественным восстановителям фертильности. Они способны полностью восстанавливать фертильность в скрещиваниях с любыми стерильными линиями в различных условиях выращивания

Based on the analysis of the nature of some flowering test crosses which have been resulted in the hybridization with purposely chosen sterile sources (analyzers), the new self - pollinated lines of maize have been identified according to the content of fertility-restorer genes of 'C' type of CMS. Genotype of the line RD 257 - rf₄rf₄rf₅rf₅Rf₆Rf₆ (class II), genotype of the line RD 245 - rf₄ rf₄ Rf₅ Rf₅ rf₆ rf₆ (class III), genotype of the line RD 274 - rf₄rf₄Rf₅Rf₅Rf₆Rf₆ (class V), genotype of the line RD 231 - Rf₄Rf₄rf₅rf₅Rf₆Rf₆ (class VI) genotype of the line RD 261 - Rf₄Rf₄Rf₅Rf₅Rf₆Rf₆ (class VII). The identification of the content of the alleles of fertility - restorer genes allows forecasting the nature of flowering hybrid progeny resulted in the hybridization with a known genotype. We have created a catalog of self - pollinated lines of maize according to the fertility-restorer genes, which consists of 18 lines, which have been studied in all the years of research. We have identified the lines belonging to classes I, II, III, V, VI, VII and VIII. During the transfer of maize hybrids on a sterile basis the lines of classes I and VIII are those ones which have been of great interest. The self - pollinated lines KV 204, SP 286 (class I) are the reliable fixers of «C» type of CMS. The progeny resulted in the hybridization with any sterile lines is characterized by complete sterility. The new self - pollinated lines KV 498, KV 272, KV 227, SP 357, RD 261 (class VIII) are constant natural fertility-restorers. They are able to fully restore fertility in hybridization with any sterile lines and in any growing conditions

Ключевые слова: СТЕРИЛЬНОСТЬ, ФЕРТИЛЬНОСТЬ, ГЕНЫ ВОССТАНОВИТЕЛИ, САМООПЫЛЕННЫЕ ЛИНИИ, ТЕСТКРОСНЫЕ ГИБРИДЫ

Keywords: STERILITY, FERTILITY, RESTORER GENES, ANALYZERS, SELFED LINES, TEST – CROSSING HYBRIDS

Введение. Использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) является необходимым условием практического применения результатов гетерозисной селекции кукурузы. Крупное

промышленное семеноводство гибридов кукурузы в Российской Федерации возможно только на основе ЦМС. Применение ЦМС позволяет выращивать высококачественные гибридные семена кукурузы без затрат ручного труда на участках гибридизации. Использование различных типов ЦМС: «М», «SD», «С», во многих случаях упрощает перевод гибридов на стерильную основу. В последние годы возрастает значение «С» типа стерильности.

Первым этапом перевода гибридов кукурузы на стерильную основу является определение реакции на стерильную цитоплазму линий, входящих в состав гибридов. Восстановление фертильности «С» типа контролируется тремя комплементарными генами Rf_4 , Rf_5 , Rf_6 , причем полное и устойчивое восстановление фертильности происходит только при наличии всех трех генов в доминантном состоянии [1, 2]. Восстановление мужской фертильности в «С» цитоплазме иногда может происходить и в присутствии не только трех, но и двух генов Rf_4 и Rf_5 или Rf_4 и Rf_6 , однако в этом случае полнота восстановления фертильности зависит в большей степени от внешних условий и от того, на каком генотипическом фоне и в каком состоянии: гетерозиготном или гомозиготном находятся указанные гены. По силе действия гены являются не равнозначными $Rf_4 > Rf_5 > Rf_6$ [3].

При определении реакции на ЦМС «С» типа необходимо учитывать генотип стерильного тестера. Фертильное потомство в некоторых скрещиваниях может быть получено в результате комплементарного взаимодействия анализатора и линии.

Исходя из особенностей восстановления фертильности «С» типа стерильности следует, что идентификация самоопыленных линий в отношении генов восстановления фертильности имеет большое теоретическое и практическое значение при создании гибридов кукурузы на стерильной основе [4].

Материалы и методы. Для изучения взяты 5 новых самоопыленных линий кукурузы: РД 231, РД 245, РД 257, РД 261, РД 274. Они скрещены с источниками стерильности (анализаторами) «С» типа.

Получено 35 тесткроссных гибридов, которые оценены по характеру цветения метелок в 2014 – 2015 годах.

Для идентификации линий взяты 7 анализаторов (стерильных источников) специально подобранных гомозиготных форм различающихся по генам восстановления. Анализаторы систематизированы по составу аллелей генов восстановления.

Генотип стерильного источника Гб 834 С - $rf_4rf_4rf_5rf_5rf_6rf_6$, то есть три гена присутствуют в рецессивном состоянии. У источника R 211С в доминантном состоянии один ген – Rf_6 , а два rf_4 и rf_5 – в рецессивном. По одному гену восстановителю в доминантном состоянии присутствует у источника 149 С (Rf_5) и источника КР 21 С (Rf_4). В генотипе стерильных источников WF 9 С, LC и W401 С представлены по два гена восстановителя фертильности в доминантном состоянии, но все эти источники различаются по сочетанию генов. У стерильного источника WF 9 С в доминантном состоянии имеются гены Rf_5 и Rf_6 , у источника LC – Rf_4 и Rf_6 , у источника W 401 С – Rf_4 и Rf_5 (табл. 1).

1. Источники стерильности «С» типа ЦМС

Название источника	Генотип	Класс
Гб 834 С	$rf_4rf_4rf_5rf_5rf_6rf_6$	I
R 221 С	$rf_4rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$	II
149 С	$rf_4rf_4Rf_5Rf_5rf_6rf_6$	III
Кр 21 С	$Rf_4Rf_4rf_5rf_5rf_6rf_6$	IV
WF 9 С	$rf_4rf_4Rf_5Rf_5Rf_6Rf_6$	V
LC	$Rf_4Rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$	VI
W 401 С	$Rf_4Rf_4Rf_5Rf_5rf_6rf_6$	VII

Фертильность растений определяли по шкале Гонтаровского В. А.[5] на основе изучения характера цветения метелок (в начале и конце фазы цветения).

Уровень фертильности выражали в классах. Классы 0 и 1 относили к стерильным (С), 2 и 3 к частично фертильным (ЧФ), 4 – 5 - фертильным (Ф). Классификацию новых линий по аллелям генов *rf* проводили на основе изучения цветения метелок F₁ – тесткроссных гибридов, полученных от скрещивания источников стерильности с линиями.

Результаты. Тесткроссные гибриды, полученные с участием линии РД 257 (Гб 834 С х РД 257, R 811 С х РД 257, 149 С х РД 257, Кр 21 С х РД 257, WF 9 С х РД 257, LC х РД 257), характеризовались полной стерильностью. Только один тесткроссный гибрид W 401 С х РД 257 оказался полностью фертильным.

Потомство линии РД 245, полученное от скрещивании с анализатором LC характеризовалось полной фертильностью. Все остальные гибриды, созданные с участием линии РД 245, оценены как полностью стерильные, за исключением гибрида W 401 С х РД 245, у которого наряду с полностью стерильными растениями обнаружены частично фертильные. Возможно, это связано с присутствием генов – модификаторов (табл. 2).

2. Результаты оценки характера цветения метелок тесткроссных гибридов F₁, 2014 – 2015 гг.

Линии	Источники стерильности						
	Гб 834 С	R 811 С	149 С	Кр 21 С	WF 9 С	LC	W 401 С
	- - -	- - +	- + -	+ - -	- + +	+ - +	+ + -
РД 257	с	с	с	с	с	с	ф
РД 245	с	с	с	с	с	ф	с,чф
РД 274	с	с	с	ф	с	ф	ф
РД 231	с	с	ф	с	ф	с,чф	ф
РД 261	ф	ф	ф	ф	ф	ф	ф

«с» - стерильные, «чф» - частично фертильные, «ф» - фертильные «-» - наличие рецессивного аллеля, «+» - наличие доминантного аллеля.

Тесткроссные гибриды линии РД 274 (Гб 834 С х РД 274, R 811 С х РД 274, 149 С х РД 274 и WF 9 С х РД 274) отличались полной стерильностью, тесткроссы Кр 21 С х РД 274, LC х РД 274 и W 401 С х РД 274 - полной фертильностью.

Линия РД 231 в скрещивании с анализаторами Гб 834 С, R 811 С, Кр 21 С имела полностью стерильное потомство. Эта же линия в скрещивании с анализаторами 149 С, WF 9 С и W 410 С имела полностью фертильное потомство. В скрещивании с анализатором LC все растения предположительно должны быть стерильными, однако в потомстве присутствовали частично фертильные растения (класс 2, 3). Этот факт объясняется наличием в генотипе линий РД 274 генов - модификаторов, усиливающих фертилизующую способность.

Самоопыленная линия РД 261 в скрещивании со всеми источниками стерильности имела полностью фертильное потомство.

Учитывая современные представления о генетическом контроле «С» типа ЦМС, а также анализируя полученные данные характера цветения тесткроссов от скрещивания со стерильными источниками, новые самоопыленные линии кукурузы классифицированы по генам восстановителям фертильности (табл. 3).

3. Классификация новых самоопыленных линий кукурузы по генам восстановителям фертильности «С» типа ЦМС, 2014 – 2015 гг.

Линии	Генотип			Класс
РД 257	rf ₄ rf ₄	rf ₅ rf ₅	Rf ₆ Rf ₆	II
РД 245	rf ₄ rf ₄	Rf ₅ Rf ₅	rf ₆ rf ₆	III
РД 274	rf ₄ rf ₄	Rf ₅ Rf ₅	Rf ₆ Rf ₆	V
РД 231	Rf ₄ Rf ₄	rf ₅ rf ₅	Rf ₆ Rf ₆	VI
РД 261	rf ₄ rf ₄	Rf ₅ Rf ₅	Rf ₆ Rf ₆	VIII

«rf» - гены восстановители фертильности в рецессивном состоянии

«Rf» - гены восстановители фертильности в доминантном состоянии

Генотип новой линии РД 257- $rf_4rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$, то есть представлен одним геном восстановителем в доминантном состоянии (Rf_6) и двумя генами в рецессивном состоянии (rf_4 rf_5). Такой состав генов – восстановителей позволяет отнести линию ко второму классу.

В генотипе оцениваемой самоопыленной линии РД 245 ($rf_4rf_4Rf_5Rf_5rf_6rf_6$) в доминантном состоянии присутствует ген - восстановитель Rf_5 , а в рецессивном – гены rf_4 и rf_5 . Эта линия по составу аллельных генов восстановителей относится к третьему классу. Линия РД 274 с генотипом $rf_4rf_4Rf_5Rf_5rf_6rf_6$ отнесена к пятому классу, у нее в доминантном состоянии представлены гены – восстановители Rf_5 и Rf_6 .

Линия РД 231 имеет генотип $Rf_4Rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$ (класс VI), то есть в доминантном состоянии выявлены гены Rf_4 и Rf_6 . У линий РД 261 все гены восстановители в доминантном состоянии - Rf_4Rf_4 , Rf_5Rf_5 , Rf_6Rf_6 (класс VIII).

В предыдущие годы (2006 - 2008) в лаборатории селекции и семеноводства кукурузы ВНИИЗК были идентифицированы по генам восстановителям фертильности 9 самоопыленных линий кукурузы – КВ 3, КВ 87, КВ 204, КВ 227, КВ 272, КВ 276, КВ 469, КВ 498, КВ 655 [6]. В 2012 -2014 годах проведена работа по идентификации следующей группы линий: СП 286, СП 275, СП 331 и СП 375 [5]. Всего изучено 18 новых самоопыленных линий, что позволило создать каталог линий кукурузы по составу аллелей генов – восстановителей фертильности «С» типа ЦМС (табл. 4).

4. Каталог самоопыленных линий кукурузы по генам восстановителям фертильности «С» типа ЦМС

Линии	Генотип Rf ₄ Rf ₅ Rf ₆	Класс	Прогноз поведения линий в скрещиваниях
КВ 204	- - -	I	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I – VII классов
СП 286	- - -	I	
КВ 3	- - +	II	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I – VI классов, восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями VII класса
КВ 87	- - +	II	
РД 257	- - +	II	
РД 245	- + -	III	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I – III, V - VII классов, восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями IV класса
КВ 469	- + +	V	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I – III, V классов, восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями IV, VI и VII классов
КВ 655	- + +	V	
СП 275	- + +	V	
РД 274	- + +	V	
РД 231	+ - +	VI	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I, II, IV и VI классов, восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями III, V и VII классов
КВ 276	+ + -	VII	Закрепляют стерильность в скрещивании с линиями I, III, IV и VII классов, восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями II, V и VI классов
СП 331	+ + -	VII	
КВ 498	+ + +	VIII	Восстанавливают фертильность в скрещивании с линиями всех классов
КВ 272	+ + +	VIII	
КВ 227	+ + +	VIII	
СП 357	+ + +	VIII	
РД 261	+ + +	VIII	

При скрещивании линий с известным генотипом можно реально предвидеть характер цветения гибридного потомства. Среди идентифицированных линий только две – КВ 204 и СП 286 являются надежными закрепителями стерильности (класс I). Они, благодаря отсутствию генов восстановителей фертильности в доминантном состоянии, в скрещивании с любыми стерильными линиями независимо от условий среды они будут закреплять стерильность «С» типа ЦМС. Создание стерильных аналогов по этим линиям не сопряжено с какими-либо сложностями.

Новые линии КВ 498, КВ 272, КВ 227, СП357, РД 261 являются константными естественными восстановителями фертильности. Они

способны полностью восстанавливать фертильность в скрещивании с любыми стерильными линиями, в различных условиях их выращивания. Это возможно благодаря присутствию в генотипе линий всех генов восстановителей в доминантном состоянии.

Остальные изученные линии отнесены к промежуточным классам: КВ 3, КВ 87, РД 257 (класс II), РД 245 (класс III), КВ 469, КВ 655, СП 275, РД 277 (класс V), РД 231 (класс VI), КВ 276, СП 391 (класс VII).

В скрещивании с одними линиями они закрепляют стерильность, а в скрещивании с другими – восстанавливают. Выявленный состав аллелей генов – восстановителей позволяет прогнозировать поведение этих линий в скрещивании с любыми линиями с известным генотипом.

Следует отметить, что за годы исследований удалось выявить линии I, II, III, V, VI, VII и VIII классов. Не выявлено ни одной линии, принадлежащей к IV классу (генотип $Rf_4Rf_4rf_5rf_5rf_6rf_6$), по - видимому, линии с таким составом аллелей генов восстановителей редко встречаются.

Выводы. Тескроссные гибриды, полученные от скрещивания новых самоопыленных линий кукурузы с анализаторами, различались по характеру цветения – от полной стерильности, до полной фертильности.

Идентифицированы новые самоопыленные линии кукурузы по составу аллелей генов – восстановителей фертильности «С» типа ЦМС: РД 257 – $rf_4rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$ (класс II), РД 245 – $rf_4rf_4Rf_5Rf_5rf_6rf_6$ (класс III), РД 274 – $rf_4rf_4Rf_5Rf_5Rf_6Rf_6$ (класс V), РД 231 – $Rf_4Rf_4rf_5rf_5Rf_6Rf_6$ (класс VI), РД 261 – $Rf_4Rf_4Rf_5Rf_5Rf_6Rf_6$ (класс VII).

Создан каталог самоопыленных линий кукурузы по генам восстановителям фертильности, в который включены 18 линий. Выделены линии, принадлежащие к I, II, III, V, VI, VII и VIII классам.

Идентификация состава аллелей генов восстановителей фертильности позволяет прогнозировать характер цветения гибридного

потомства, полученного от скрещивании самоопыленных линий с известным генотипом.

Литература

1. Франковская М.Т. Особенности использования «С» типа цитоплазматической мужской стерильности в семеноводстве гибридов кукурузы: автореф. дис. ... канд. с. – х. наук / М. Т. Франковская – Харьков, 1989. – 22 с.
2. Горбачева А. Г. Селекционные и генетические аспекты использования мужской стерильности: автореф. дис. ... д-ра с.–х. наук / А. Г. Горбачева. – СПб., 2007. – 48 с.
3. Гонтаровский В. А. Генетические основы использования цитоплазматической мужской стерильности у кукурузы: автореф. дис. ... д - ра с. - х. наук / В. А. Гонтаровский. – Харьков, 1986. – 47 с.
4. Огняник Л. Г. Селекционно – генетическое изучение цитоплазматической мужской стерильности и использование в селекции и семеноводстве кукурузы: автореф. дис. ...канд. с. – х. наук./ Л. Г. Огняник – Краснодар, 1998. – 27 с.
5. Гонтаровский В. А. Генетическая классификация источников цитоплазматической мужской стерильности у кукурузы / В. А. Гонтаровский // Генетика. – 1971. - № 9. - С. 22 - 30.
6. Кривошеев Г. Я. Классификация новых самопыленных линий кукурузы по генам - восстановителям фертильности «С» типа ЦМС / Г. Я. Кривошеев // Зерновое хозяйство России. - 2010. - №1 (7). - С. 3 – 6.
7. Кривошеев Г. Я. Классификация линий кукурузы по составу аллелей генов восстановителей «С» типа стерильности / Г. Я. Кривошеев // Зерновое хозяйство России. - 2015. - 1(37). - С. 39 – 42.

References

1. Frankovskaja M.T. Osobennosti ispol'zovanija «S» tipa citoplazmaticheskoj muzhskoj steril'nosti v semenovodstve gibridov kukuruzy: avtoref. dis. ... kand. s. – h. nauk / M. T. Frankovskaja – Har'kov, 1989. – 22 s.
2. Gorbacheva A. G. Selekcionnye i geneticheskie aspekty ispol'zovanija muzhskoj steril'nosti: avtoref. dis. ... d-ra s.–h. nauk / A. G. Gorbacheva. – SPb., 2007. – 48 s.
3. Gontarovskij V. A. Geneticheskie osnovy ispol'zovanija citoplazmaticheskoj muzhskoj steril'nosti u kukuruzy: atoref dis. ... d - ra s. - h. nauk / V. A. Gontarovskij. – Har'kov, 1986. – 47 s.
4. Ognjanik L. G. Selekcionno – geneticheskoe izuchenie citoplazmaticheskoj muzhskoj steril'nosti i ispol'zovanie v selekcii i semenovodstve kukuruzy: avtoref. dis. ...kand. s. – h. nauk./ L. G. Ognjanik – Krasnodar, 1998. – 27 s.
5. Gontarovskij V. A. Geneticheskaja klassifikacija istochnikov citoplazmaticheskoj muzhskoj steril'nosti u kukuruzy / V. A. Gontarovskij // Genetika. – 1971. - № 9. - S. 22 - 30.
6. Krivosheev G. Ja. Klassifikacija novyh samopylennyh linij kukuruzy po genam - vosstanoviteljam fertil'nosti «S» tipa CMS / G. Ja. Krivosheev // Zernovoe hozjajstvo Rossii. - 2010. - №1 (7). - S. 3 – 6.
7. Krivosheev G. Ja. Klassifikacija linij kukuruzy po sostavu allelej genov vosstanovitelej «S» tipa steril'nosti / G. Ja Krivosheev // Zernovoe hozjajstvo Rossii. - 2015. - 1(37). - S. 39 – 42.