УДК 633.854.78:631.523.2

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ФЕРТИЛЬНОСТИ НЕКОТОРЫХ ИСТОЧНИКОВ ЦМС ПОДСОЛНЕЧНИКА

Чепурная А. Л., зав. лабораторией генетики

Институт масличных культур УААН (г. Запорожье)

Исследована реакция восстановления источников ЦМС подсолнечника PRR-1, PEF-1 и ANN-5 в комбинациях с 11 линиями-Rf. Восстановление фертильности PET-подобного PRR-1 контролируется двумя комплементарными доминантными генами. Система восстановления PEF-1 и ANN-5 принципиально отличается от PRR-1, что создает возможность мобилизации этих типов ЦМС в селекционных программах, как альтернативных плазме *H. petiolaris.*

Ключевые слова: подсолнечник, цитоплазматическая мужская стерильность, восстановление фертильности, ген, гибрид

Чепурна Г. Л ВІДНОВЛЕННЯ ФЕРТИЛЬНОСТІ ДЕЯКИХ ДЖЕРЕЛ ЦЧС СОНЯШНИКУ / Інститут олійних культур УААН, Україна

Досліджена реакція відновлення джерел ЦЧС соняшника PRR-1, PEF-1 та ANN-5 в комбинаціях з 11 лініями-Rf. Відновлення фертильності PET-подібного PRR-1 контролюється двома комплементарними домінантними генами. Система відновлення PEF-1 та ANN-5 принципово відрізняється від PRR-1, що створює можливість мобілізації цих типів ЦЧС у селекційних програмах, як альтернативних плазмі *H. petiolaris.*

Ключові слова: соняшник, цитоплазматична чоловіча стерильність, відновлення фертильності, ген, гібрид.

Chepurnaya A. L. FERTILITY RESTORATION OF CERTAIN CMS SOURCES / Institute of Oilseed Crops, Ukraine

The fertility restoration of sunflower CMS sources PRR-1, PEF-1 and ANN-5 in combinations with 11 Rf-lines was investigated. Restoration of PET-like PRR-1 is controlled by two dominant complementary genes. Restoration behavior of PEF-1 and ANN-5 differed from PRR-1 opens an opportuniry of thear mobilization in breeding programs, as alternative to *H. petiolaris* cytoplasm.

Key words: sunflower, cytoplasmic male sterility, fertility restoration, gene, hybrid.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из ведущих направлений современной селекции подсолнечника является создание высокоурожайных гибридов. Ускоренному развитию селекции и семеноводства гибридов подсолнечника в промышленных масштабах способствовало, в первую очередь, явление цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). В настоящее время все гибридное семеноводство в мире основано на использовании «классического» источника ЦМС на плазме *H. petiolaris,* выявленного в 1969 г. П. Леклерком [1]. Однако, такое интенсивное использование лишь одного источника ЦМС приводит к повсеместному распространению гибридов подсолнечника, несущих родственный тип цитоплазмы. Генетическая однородность возделываемых гибридов делает их чрезвычайно уязвимыми к новым вирулентным расам патогенов [2]. Примером этому служит эпифитотия южного гельминтоспориоза гибридов кукурузы на базе техасского типа ЦМС, принявшая мировой масштаб [3].

С целью предотвращения таких негативных последствий научные учреждения и международные программы ведут сейчас активный поиск новых источников ЦМС и их интенсивное изучение для дальнейшей мобилизации в селекционных программах альтернативных типов ЦМС с системой восстановления, отличной от PET-1. По данным 1999 г., учеными разных стран идентифицировано 62 источника ЦМС подсолнечника [4]. Внедрение в производство гибридов на основе различных цитоплазматических геномов позволит повысить общую изменчивость вида и этим избежать проблем, возникающих при использовании единственной цитоплазмы PET-1.

Целью проведенного нами исследования явилось изучение восстановительной реакции некоторых типов ЦМС подсолнечника.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования из коллекции подсолнечника лаборатории генетики Института масличных культур (г. Запорожье) нами было отобрано три источника ЦМС, полученных на основе гибридизации с

дикорастущими видами *H. praecox* (PRR-1), *H. fallax* (PEF-1) и *H. annuus wild* (ANN-5). Для получения гибридных комбинаций использовали 11 линий - восстановителей фертильности - RHA-274, SH-416/5, RFT-1, JUG-1, DCF-1, DCF-2, DCF-3, DCF-4, RCMG-2, RPEF-1 и RARG-1. Все фертильные линии, за исключением RHA-274, созданы в лаборатории генетики.

Эксперименты проводили в полевых условиях в 1998 - 2000 гг. Основным методом исследования являлся гибридологический анализ по полной схеме топ-кроссов: для получения тест-гибридов F_1 каждый источник ЦМС опылялся пыльцой каждого восстановителя. Скрещивания проводили вручную с использованием бумажных изоляторов - пергаментных пакетов размером 40 × 60 см. Родительские растения изолировали за три – четыре дня до начала цветения. Каждое опыление повторяли, как правило, через 2 - 3 дня. В ходе эксперимента получили 33 гибридные комбинации. Каждая комбинация выполнена в двукратной повторности. Фертильные растения поколения F_1 самоопыляли. Растения поколения F_1 и F_2 высевали на отдельной делянке и описывали индивидуально по признаку фертильности/стерильности. Результаты исследования подвергались статистической обработке [5]. Проверку соответствия наблюдаемого расщепления предлагаемой нами генетической модели проводили методом “хи-квадрат” (χ^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Источник ЦМС PRR-1 полностью восстанавливался линиями RHA-274 (международным эталоном - восстановителем PET-1) и генетически близкой к RHA-274 SH 416/5: в поколении F_1 тест-гибридов наблюдали только фертильные растения (табл. 1).

Расщепления этих комбинаций в поколении F_2 на стерильные и фертильные растения соответствовало теоретическому 1 : 3. Мы предположили, что восстановление фертильности ЦМС в данном случае контролируется двумя доминантными комплементарными генами, причем в генотипе материнского растения один из генов-Rf доминантный. Следовательно, генотип материнского растения - $Rf_1Rf_1\ rf_2rf_2$, а отцовского - $Rf_1Rf_1\ Rf_2Rf_2$:

P	$Rf_1Rf_1\ rf_2rf_2 \times$	$Rf_1Rf_1\ Rf_2Rf_2$
F_1	$Rf_1Rf_1\ Rf_2\ rf_2$	
F_2	$Rf_1Rf_1\ Rf_2Rf_2$	- ферт.
	$Rf_1Rf_1\ Rf_2\ rf_2$	- ферт.
	$Rf_1Rf_1\ Rf_2\ rf_2$	- ферт.
	$Rf_1Rf_1\ rf_2rf_2$	- стер. 1 : 3

Таблица 1 - Восстановление фертильности ЦМС PRR-1 различными Rf-линиями

Восстано-витель	F_1					F_2				
	Количество растений		Матем. модель	χ^2	P	Количество растений		Матем. модель	χ^2	P
	С	Ф				С	Ф			
RHA-274	0	29	0 : 1	0	1,0	-	-	-	-	-
SH 416/5	0	83	0 : 1	0	1,0	11 32 33 32	46 100 97 78	1 : 3 1 : 3 1 : 3 1 : 3	0,84 0,04 0,01 0,76	0,4 1,0 1,0 0,4
RFT-1	0	33	0 : 1	0	1,0	16	46	1 : 3	0,02	1,0
DCF-1	0	45	0 : 1	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-2	0	24	0 : 1	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-3	12 32	9 33	1 : 1 1 : 1	0,42 0,02	0,5 1,0	8 19	20 14	1 : 3 1 : 1	0,19 0,76	0,8 0,4
DCF-4	0	58	0 : 1	0	1,0	-	-	-	-	-
RARG-1	26	25	1 : 1	0,02	1,0	28	90	1 : 3	0,04	1,0

RPEF-1	18	15	1 : 1	0,27	0,8	-	-	-	-	-
RCMG-2	58	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RJUG-1	34	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-

Подобное расщепление могло бы иметь место и при контроле восстановления ЦМС единственным доминантным геном-Rf. Однако дальнейшее изучение восстановительной реакции ЦМС PRR-1 позволило отнести его к группе PET-подобных ЦМС [6], что подтверждено современными молекулярными исследованиями [7, 8]. А согласно многочисленным литературным данным восстановление фертильности PET-1 контролируется двумя доминантными комплементарными генами [4, 9, 10].

ЦМС PRR-1 не восстанавливался только линиями RCMG-2 и RJUG-1. Это может свидетельствовать о неполном комплексе генов-Rf или их высокой степени гетерозиготности. Комбинации с другими линиями - восстановителями были абсолютно фертильны, за исключением случаев гетерозиготности фертильных линий по генам-Rf, что выражалось в расщеплении, близком к теоретическому 1 : 1 (см. табл. 1).

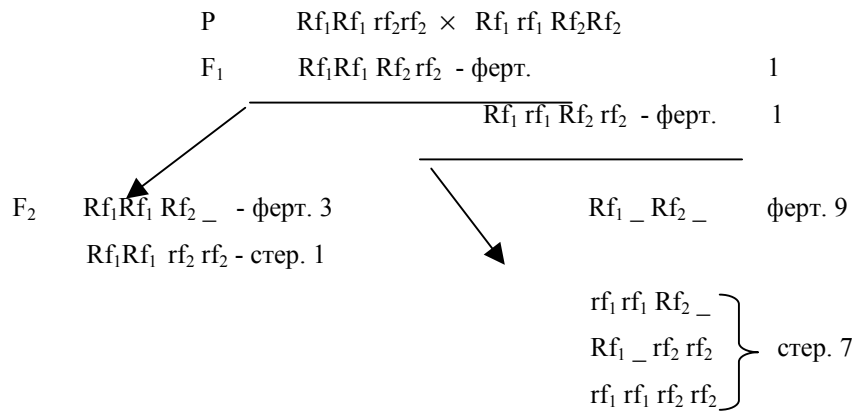
Система восстановления остальных исследованных существенно отличалась от PET-1. Комбинации ЦМС PEF-1 с RHA-274 и SH 416/5 были абсолютно стерильны, но альтернативные линии в большинстве своем восстанавливали фертильность данного источника ЦМС (табл. 2). Тест-гибриды были полностью фертильны при использовании в качестве отцовских растений линий DCF-2, DCF-3 и RJUG-1. В других исследованиях сообщается, что ни одна из использованных отцовских форм не вызывала 100 %-ного восстановления ЦМС PEF-1 в поколении F_1 [11]. В случае гетерозиготности восстановителей по генам-Rf, полученные нами тест-гибриды расщеплялись на стерильные и фертильные растения в отношении, близком к теоретическому 1 : 1.

Расщепления комбинаций в поколении F_2 свидетельствуют о дигенном контроле эффекта восстановления комплементарными доминантными аллелями, что согласуется с другими литературными источниками [2].

Таблица 2 - Восстановление ЦМС PEF-1 различными Rf-линиями

Восстано-витель	F_1					F_2				
	Количество растений		Матем. модель	χ^2	P	Количество растений		Матем. модель	χ^2	P
	С	Ф				С	Ф			
RHA-274	34	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
SH 416/5	30	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RFT-1	23	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-1	9	5	1 : 1	0	1,0	34 10	99 7	1 : 3 1 : 1	0,04 0,53	1,0 0,4
DCF-2	0 7	9 10	0 : 1 1 : 1	0 0,53	1,0 0,4	-	-	-	-	-
DCF-3	12	17	1 : 1	0,86	-	-	-	-	-	-
DCF-4	40	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RARG-1	10	10	1 : 1	0	1,0	-	-	-	-	-
RPEF-1	49	42	1 : 1	0,54	0,4	15	27	7 : 9	0,88	0,2
RCMG-2	46	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RJUG-1	0 16	65 13	0 : 1 1 : 1	0 0,31	1,0 0,5	-	-	-	-	-

В литературе также встречаются сведения о моногенном контроле восстановления ЦМС PEF-1 [11]. Однако очевидно, что это частный случай комплементарного взаимодействия, обусловленный гомозиготностью по одному из генов-Rf. Так, фертильность растений комбинации [PEF-1 × DCF-3] поколения F_1 100 % и расщепления по фенотипу не происходит. Однако на делянках с потомством от самоопыленных таких фертильных растений мы наблюдали расщепления и 1 : 3, и 7 : 9 (см. табл. 2). Это объясняется гетерозиготностью гена Rf_1 у этой Rf-линии:



В зависимости от генотипа самоопыленного растения расщепления в поколении F_2 соответствовали теоретическим 1 : 3 и 7 : 9, что подтверждает дигенный комплементарный контроль восстановления этого типа ЦМС.

Источник ЦМС ANN-5 оказался довольно трудновосстанавливаемым (табл. 3). Тест гибриды [ANN-5 × RHA-274] и [ANN-5 × SH 416/5] стерильны, что свидетельствует об отсутствии в материнском растении доминантного аллеля какого-либо гена Rf_{PET-1}.

Линия RFT-1 полностью восстанавливала фертильность ЦМС ANN-5. Эффективными оказались также линии RJUG-1 и RPEF-1. Анализ растений поколений F_2 во всех случаях выявил расщепление на стерильные и фертильные, соответствующее теоретической модели 9 : 7 (см. табл. 3). Такое расщепление возможно при контроле восстановления фертильности ЦМС двумя комплементарными рецессивными генами (rf_1_rf_2_). В доступных нам литературных источниках механизм восстановления ЦМС ANN-5 рассмотрен не был.

Таблица 3 - Восстановление ЦМС ANN-5 различными Rf-линиями

Восстано-витель	F_1					F_2				
	Кол-во растений		Матем. модель	χ^2	P	Кол-во растений		Матем. модель	χ^2	P
	С	Ф				С	Ф			
RHA-274	60	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
SH 416/5	44	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RFT-1	4 0	4 31	1 : 1 0 : 1	1,0 1,0	1,0 1,0	16	7	9 : 7	1,59	0,2
DCF-1	98	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-2	18	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-3	40	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
DCF-4	53 48	0 17	1 : 0 3 : 1	0 0,08	1,0 0,7	-	-	-	-	-
RARG-1	52	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RPEF-1	13	12	1 : 1	0,04	1,0	56	33	9 : 7	1,64	0,1
RCMG-2	67	0	1 : 0	0	1,0	-	-	-	-	-
RJUG-1	12	12	1 : 1	0	1,0	61 78	45 55	9 : 7 9 : 7	0,04 0,28	1,0 0,6

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволяют сделать вывод о принципиальных отличиях в восстановлении ЦМС ANN-5 и PEF-1 от PET-подобного источника PRR-1. Это открывает новые возможности использования их в селекционной практике в качестве альтернативных PET-1, что позволит решить обсуждаемую проблему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Miller J. F. The genetics of sunflower (Sunflower technology & production). Agronomy monograph - 1997.- № 35. - P. 441- 495.
2. Miller J. F. Inheritance of restoration of *Helianthus petiolaris sp. fallax* (PEF1) cytoplasmic male sterility // Crop Science. – 1996. – V. 36. - № 1. - P. 83-86.
3. Tatum L. A. The southern corn leaf blight epidemic // Science. – 1971. - P. 1113-1116.
4. Serieys H. Identification, study and utilization of new CMS sources (Progress report 1996-1999) // IX FAO Consultation on Sunflower. - Dobrich (Bulgaria), July 27-30. - 1999.
5. Доспехов Б. Л. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1979. – 416 с.
6. Чепурная А. Л., Першин А. Ф. Мобилизация новых типов цитоплазматической мужской стерильности в селекции подсолнечника // Научн.–тех. бюл. ИМК УААН. - Запорожье. - 2000. - Вып. 5. - С. 41 – 45.
7. Horn R., Friedt W. CMS mechanisms in sunflower. How many are there? // Plant Mitochondria: from gene to function.cds (I. M. Moller, P. Gardestrom, K. Glimeltus, E. Glase). - Leiden, 1998. - P. 79-82.
8. Horn R., Friedt W. Molecular characterization of CMS sources in sunflower (1997-1998 report) // FAO working group progress report 1996-1999: Identification, study and utilization in breeding programs of new CMS sources. - P. 50 – 54.
9. Анащенко А. В., Кукош М. В. Изучение генетической системы ЦМС-Rf у подсолнечника (*Helianthus annuus L.*). Сообщение 2. Восстановление мужской фертильности у гибридов на основе ЦМСр // Генетика. – 1985. - Т. 21.- № 12. - С. 1999-2004.
10. Кукош М. В. Генетико-селекционное изучение признака восстановление фертильности пыльцы у подсолнечника: Автореф.дис..к. б. н. – Л.: ЛГУ, 1982. - 16 с.
11. Есаев А. Л., Шерстюк С. В., Таволжанский Н. П. Генетический контроль признака восстановления мужской фертильности для некоторых линий с ЦМС не РЕТ-1 подсолнечника // Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2001. – Вып. 124. – С. 36-38.