

Вплив дії малих генів на розщеплення у зворотних схрещуваннях кукурудзи з молдавським типом ЦЧС

В.М. Борисов, кандидат сільськогосподарських наук
О.М. Тарасенко, провідний науковий співробітник
НВФГ Компанія “Маїс”

Обговорюються розщеплення Rf_3 -гетерозигот у цитоплазмі молдавського типу ЦЧС кукурудзи у зворотних схрещуваннях, значення малих генів для відновлення фертильності в М-цитоплазмі. Виявлено, що ці гени мають вплив на характер розщеплення в зворотних схрещуваннях, посилюють експресивність головного гена Rf_3 і мають гаметофітну дію.

Цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦЧС) має важливе економічне значення у виробництві гібридного насіння кукурудзи [1]. Генетичний контроль ЦЧС здійснюється взаємодією специфічно зміненої цитоплазми та рецесивних генів Rf [2]. Серед відомих типів ЦЧС молдавський є найпоширенішим [3].

Згідно з відомою концепцією у відновленні фертильності молдавського типу ЦЧС, головна роль відводиться одному гену Rf_3 [2]. На відміну від інших типів молдавський має гаметофітне відновлення [4]. Подальші дослідження вітчизняних [5, 6] та закордонних авторів [7] свідчать про те, що крім головного гена для відновлення фертильності мають значення інші гени з меншою силою дії. Проте, на наш погляд, питання взаємодії малих генів з головним Rf_3 не достатньо вивчено. тому за мету в наших дослідженнях було визначення характеру дії малих генів у конкретних відомих генотипах, які використовуються у вітчизняній селекції. Вважаємо, що це допоможе уникнути труднощів під час створення аналогів-відновлювачів, коли вони виявляються не спроможними забезпечити високу фертильність гібридів на основі ЦЧС.

Матеріал і методика досліджень. Робота проводилася в Інституті зернового господарства УААН. Вихідним матеріалом досліджень були інбредні лінії кукурудзи (генотип Цит Nrf_3rf_3), а також їх рецесивні (генотип Цит Mrf_3rf_3) та доміантні (генотип Цит MRf_3Rf_3) аналоги. Лінії, які використовували в дослідженнях, відрізняються за ознакою чоловічої стерильності в М-цитоплазмі. Лінії А392, В73, Р165, Р502, W8 мають сталий високий рівень стерильності, інші – А385, А619, F522, Lc184 – проявляють часткову фертильність, рівень якої залежить від зовнішнього середовища [6]. Отримували зворотні схрещування, в яких материнською формою були М-цитостерильні Rf_3 -гетерозиготи (генотип Цит MRf_3rf_3), а батьківською – rf_3 -рецесивні гомозиготи (генотип Цит Nrf_3rf_3).

Класифікація рослин проводилася за методикою, прийнятою в лабораторії. Фертильність рослин визначали за шестибальною шкалою в польових умовах, де клас 0 – повна стерильність, стерильні пиляки не виходять з колоскових

лусок; клас 1 – повна стерильність, значна кількість стерильних пиляків виходить з колоскових лусок; клас 2 – неповна стерильність, кількість фертильних пиляків не перевищує 25 %; клас 3 – часткова фертильність, кількість фертильних пиляків 25–75 %; клас 4 – неповна фертильність, кількість фертильних пиляків перевищує 75 %; клас 5 – повна фертильність. При цьому до стерильних відносили класи 0 та 1, до квітучих 2–5, фертильними вважали класи 4 і 5.

Математичну обробку даних проводили за методом χ^2 .

Результати досліджень та їх обговорення. Як відомо, у моногібридних схрещуваннях з рецесивною батьківською формою очікується розщеплення за ознакою, яка просто спадкується, у відношенні 1:1. У наших дослідженнях не всі комбінації відповідали такій формулі. У табл. 1 представлені результати вивчення зворотних схрещувань гібридів, отриманих за участю М-аналога лінії P502.

1. Розщеплення гетерозигот ЦитMRf₃rf₃ у схрещуваннях з лінією P502M, 2002 р.

Назва	Кількість рослин	Розподіл за класами						Очікуване розщеплення	$\chi^2_{1:1}$	P
		0	1	2	3	4	5			
(P502M×A392MB)×A392	21	10	1	-	2	-	8	10,5:10,5	0,05	0,95>P>0,8
(P502M×A392MB)×P502	17	11	4	-	-	1	1	8,5:8,5	9,94	P<0,01
(P502M×F522MB)×F522	29	2	6	5	2	3	11	14,5:14,5	5,83	0,05>P>0,01
(P502M×F522MB)×P502	24	8	5	9	2	-	-	12:12	0,17	0,8>P>0,5
(P502M×W8MB)×W8	29	16	-	3	4	-	6	14,5:14,5	0,16	0,8>P>0,5
(P502M×W8MB)×P502	29	17	4	7	-	1	-	14,5:14,5	5,83	0,05>P>0,01
(P502M×B73MB)×B73	26	16	1	1	2	1	5	13:13	2,46	0,2>P>0,05
(P502M×B73MB)×P502	24	16	1	5	1	-	1	12:12	4,17	0,05>P>0,01

Всі гетерозиготи ЦитMRf₃rf₃ у схрещуваннях з генотипом P502 часто мають знижений рівень фертильності і розщеплення не відповідає відношенню 1:1. У всіх потомствах стерильні рослини складають більше 50 %, а квітучі переважно частково-фертильні (класи 2 і 3). Враховуючи високу фертильність ЦитMRf₃rf₃-генотипів простого схрещування, можна стверджувати про присутність у них малих генів у гетерозиготному стані, ефект дії яких у зворотному схрещуванні з рецесивним генотипом лінії P502 зменшується через виникнення нових рекомбінацій, де кількість малих генів виявляється недостатньою для нормальної фертильності.

У зворотних схрещуваннях з лініями A392, F522, W8, B73 відмічається чіткіше розщеплення, яке у більшості випадків відповідає очікуваному. Виняток становить розщеплення з лінією F522, де переважають квітучі рослини, серед яких близько 1/3 – частково-фертильні. Очевидно, що останні не несуть у собі Rf₃, а функцію відновлення фертильності виконують малі гени.

Крім зворотних схрещувань відновлених гібридів з вихідними рецесивними формами, проводили інші схрещування, де за материнські форми використовували стерильні аналоги цих самих ліній. Згідно з дослідженнями Vuchert [4], у подібних генотипах очікується повна фертильність. У наших дослідженнях подібної одноманітності не спостерігалось (табл. 2). Одержані

дані таблиці свідчать про те, що рівень фертильності зворотних схрещувань залежить здебільшого від генотипічних особливостей батьківської форми, яка повторюється. У схрещуваннях з лінією P502M фертильність завжди нижча, ніж у схрещуваннях з лініями, які мають підвищену здатність до фертилізації – A392, W8, Lc184. Присутність стерильних рослин у схрещуваннях ЦитMrf₃rf₃×(ЦитMrf₃rf₃×ЦитMRf₃rf₃) демонструє, що дія гена Rf₃ може бути недостатня для відновлення фертильності генотипів з дефіцитом малих генів. Щодо частково-фертильних рослин, то не можна впевнено сказати, чи є вони Rf₃-гетерозиготами з дефіцитом малих генів, чи rf₃-гомозиготами, відновлення фертильності яких відбувається за рахунок малих генів.

2. Поведінка гетерозигот ЦитM Rf₃rf₃ у зворотних схрещуваннях з рецесивними M-стерильними лініями, 2002 р.

Назва	Розподіл рослин								
	за класами, число						за групами, %		
	0	1	2	3	4	5	0–1	2–3	4–5
P502M×(P502M×A392MB)	5	3	3	3	3	8	32,0	24,0	44,0
A392M×(P502M×A392MB)	1	-	-	2	2	11	6,2	12,5	81,3
P502M×(P502M×W8MB)	9	6	8	5	-	-	53,6	46,4	-
W8M×(P502M×W8MB)	2	1	3	-	2	19	11,1	11,1	77,8
P502M×(P502M×Lc184MB)	7	4	6	5	1	2	44,0	44,0	12,0
Lc184M×(P502M×Lc184MB)	7	-	2	1	2	17	22,6	9,7	67,7

Уявленню про роль малих генів, як підсилювачів головного Rf₃, відповідають також результати вивчення реципрокних схрещувань (табл. 3). У всіх реципрокних комбінаціях фертильність генотипів (ЦитMrf₃rf₃×ЦитMRf₃rf₃) вища. Це свідчить про гаметофітну дію генів відновлення. Як і в попередньому досліді, схрещування ЦитMrf₃rf₃×(ЦитMrf₃rf₃×ЦитMRf₃rf₃) не мають повної фертильності.

3. Поведінка гетерозигот ЦитM Rf₃rf₃ у реципрокних схрещуваннях, 2002 р.

Назва	Кількість рослин	Розподіл рослин за класами, число						Очікуване розщеплення	$\chi^2_{1:1}$	P
		0	1	2	3	4	5			
A385M×(P165M×A385нMB)	62	-	-	-	1	-	61			
(P165M×A385нMB)×A385	59	14	7	6	-	-	32	29,5:29,5	4,89	0,05>P>0,01
P165M×(P165M×A385нMB)	48	8	-	1	2	-	37			
(P165M×A385нMB)×P165	51	30	-	2	2	2	15	25,5:25,5	1,33	0,5>P>0,2
A385M×(A385M×P165MB)	50	-	3	13	14	6	14			
(A385M×P165MB)×A385	65	5	15	26	9	1	9	32,5:32,5	4,8	0,05>P>0,01
A619M×(A619M×P165MB)	48	12	-	4	5	3	24			
(A619M×P165MB)×A619	53	30	2	9	-	3	9	26,5:26,5	2,28	0,2>P>0,05
A619M×(A619M×A385нMB)	51	7	-	8	7	1	28			
(A619M×A385нMB)×A619	47	11	4	9	3	2	18	23,5:23,5	6,14	0,05>P>0,01
A385M×(A619M×A385нMB)	44	-	-	1	3	2	39			
(A619M×A385нMB)×A385	53	7	2	13	6	4	21	26,5:26,5	22,56	P<0,01

У комбінаціях (ЦитMrf₃rf₃×ЦитMRf₃rf₃)×ЦитNrf₃rf₃ розщеплення не завжди відповідає відношенню 1:1. У беккросах, у яких батьківською формою, що повторюється, є лінія з високою здатністю до фертилізації, переважають фертильні рослини. Найбільш недостовірне відхилення спостерігали у

схрещуванні (A619M×A385нМВ)×A385, всі батьківські форми якого представлені лініями з високою здатністю до фертилізації. Високий рівень фертильності в ньому забезпечує кумулятивна дія малих генів.

Висновки

Відхилення від розщеплення 1:1 у схрещуваннях Rf_3 -гетерозигот з rf_3 -рецесивними лініями свідчить про полігенність системи відновлення фертильності. Різноманіття за рівнем фертильності зворотних схрещувань забезпечується впливом малих генів на експресивність головного Rf_3 , посилюючи дію останнього. За результатами досліджень можна виділити лінії, які є носіями малих генів. Ці лінії з високою здатністю до фертилізації (A619, A385, F522, W8, Lc184. Лінії P165 та P502), навпаки, мають високу здатність до стерилізації, в результаті чого можна припустити, що малі гени в них знаходяться в рецесивному стані. Лінії A392 та B73 займають проміжне становище, можливо, що кількість генів модифікаторів у них не достатня для самостійного впливу.

Різниця в реципрокних схрещуваннях свідчить про гаметофітну дію генів відновлення.

Бібліографія

1. Mackenzie S. The influence of mitochondrial genetics in crop breeding strategies // Plant breeding, 2004. – Vol. 25. – P. 115–138.
2. Duvick D.N. Cytoplasmic pollen sterility in corn // Advances Genetics. – 1965. – V.13. – P. 1–56.
3. Sofi P.A., Rather A.G., Wani S.A. Genetic and molecular basis of cytoplasmic male sterility in maize // Communications in biometry and crop science, 2007. – Vol. 2. – P. 49–60.
4. Buchert J.G. The stage of genome-plasmon interaction in the restoration of fertility to cytoplasmically pollen-sterile maize // Proceedings of National Academy of Science USA, 1961. – V. 47. – P. 1436–1440.
5. Гонтаровский В.А. Комплементарное взаимодействие Rf-генов в цитоплазме молдавского типа ЦМС кукурузы // Цитология и генетика, 2003. – Т. 37. – № 3. – С. 16–23.
6. Тарасенко О.М. Взаємодія малих генів у rf_3 -рецесивних генотипах кукурудзи з молдавським типом ЦЧС // Науковий вісник Ужгородського університету, 2006. – № 18. – С. 9–14.
7. Molecular-Genetic Characterization of CMS-S Restorer-of-Fertility Alleles Identified in Mexican Maize and Teosinte / S. Gabay-Laughnan, C.D. Chase, V.M. Ortega, L. Zhao // Genetics. – 2004. – Vol. 166 – P. 959–970.