

ОТРИМАННЯ ЗАКРІПЛЮВАЧІВ ГЕНЗАЛЕЖНОЇ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНОЇ ЧОЛОВІЧОЇ СТЕРИЛЬНОСТІ РІПАКУ

А.Д. ЧЕРНЕНКО, аспірант *

Ф.М. ПАРІЙ, доктор біологічних наук

Уманський національний університет садівництва

Наведено результати адаптації та застосування в селекції ріпаку способу створення закріплювачів стерильності, розробленого для буряка цукрового з використанням виділених з природної популяції, або створених іншим способом стерильних форм

Ключові слова: *гензалежна цитоплазматична чоловіча стерильність, стерильна форма, фертильна форма, закріплювач стерильності*

Нині на вітчизняному ринку спостерігається експансія насіння гібридів ріпаку закордонного походження, що здатні переважати за рівнем врожайності вітчизняні сорти передусім за рахунок гетерозису. Тому потреба у створенні вітчизняних гібридів є більш ніж нагальною.

Для отримання гібридного насіння необхідно уникнути самозапилення материнського компонента, оскільки ріпак є факультативним самозапилювачем, ступінь перехресного запилення якого, залежно від умов навколишнього середовища, знаходиться в межах від 15 до 45% [2, 7].

Тому передумовою проведення гібридизації ріпаку є передача материнському компоненту ознак гензалежної чоловічої стерильності, й набуття рослинами батьківського компонента здатності відновлювати фертильність стерильних форм.

* Науковий керівник — доктор біологічних наук Ф.М. Парій

Гензалежна чоловіча стерильність ріпаку контролюється взаємодією генів s , що знаходяться в цитоплазмі S із рецесивними ядерними генами rf у гомозиготному стані [3]. Гени цитоплазми, які відповідають за прояв ознаки стерильності, локалізовані у мітохондріях [5, 6].

Джерелами генів, що спричиняють прояв у ріпаку ознаки гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності, можуть слугувати природні популяції цієї культури та інших видів родини капустяних. Окрім того, ця ознака може бути штучно індукована за допомогою мутагенів [8].

Практичне використання гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції ріпаку вимагає створення стерильних форм, закріплювачів стерильності, що дають змогу розмножувати стерильні форми, та відновлювачів фертильності стерильних форм.

Таким чином, рослини материнського компонента мають містити стерилізуючу цитоплазму та рецесивні гени rf ядра в гомозиготному стані, рослини закріплювача стерильності — нормальну N (нестерилізуючу) цитоплазму і рецесивні гени rf ядра в гомозиготному стані, а батьківський компонент — домінантні гени ядра Rf у гомозиготному стані.

Розроблений спосіб отримання закріплювачів цитоплазматичної чоловічої стерильності, що показав свою ефективність у селекції буряка цукрового, може бути адаптованим для використання в селекції ріпаку [1]. Суть цього способу полягає в перенесенні генів «закріплення стерильності» до генотипу рослин з N (нормальною) цитоплазмою за допомогою схрещувань, самозапилення отриманих рослин і виділення закріплювачів стерильності з застосуванням аналізуючих схрещувань.

Мета дослідження — адаптувати розроблений для буряка цукрового спосіб отримання закріплювачів гензалежної цитоплазматичної стерильності з метою використання в селекції ріпаку і створення на його основі закріплювачів гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності.

Матеріали і методика досліджень. Вихідним матеріалом слугував зразок ріпаку озимого 87–2/6 [4]. Виділені серед рослин цього зразка стерильні «Наукові доповіді НУБіП» 2011-2 (24) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_2/11cad.pdf

форми були використані в системі схрещувань з метою створення закріплювачів стерильності.

Техніка схрещування полягала в підготовці суцвіть батьківського та материнського компонентів до схрещування, нанесенні пилку з батьківських квіток на материнські приймочки маточок та ізолюванні запилених суцвіть. При цьому суцвіття стерильних рослин материнського компонента ізолювали з використанням поліетиленових ізоляторів. Суцвіття батьківського компонента ізолювали за допомогою пергаментних ізоляторів. Через 2–3 дні, коли стерильні квітки материнського компонента розпускались, поліетиленові ізолятори знімали, видаляли квітки, що відцвіли, і ті, що не розпустились, а також точку росту суцвіття. Запилення виконували наносячи пилок на приймочки маточок безпосередньо з тичинок квіток, які були зірвані з ізолюваних суцвіть рослин батьківського компонента.

Під час кастрації пінцетом видаляли пелюстки та тичинки на 6–8 найбільш розвинених нерозкритих квітках суцвіття, а також усі інші квітки і точку росту. Кастровані квітки ізолювали поліетиленовими ізоляторами. Схрещування проводили наступного дня, наносячи пилок на приймочки маточок з пиляків зірваних квіток батьківського компонента, що знаходились під ізоляторами.

При самозапиленні на суцвіттях видаляли квітки, що вже розпустились, залишаючи 10–15 квіток, та точку росту. Для ізолювання суцвіть, на яких виконали гібридизацію або самозапилення, використовували пергаментні ізолятори.

Результати досліджень. Початковим етапом нашої роботи було одержання стерильних форм та визначення типу їх стерильності. Їх виділили серед рослин, отриманих від самозапилення зразка ріпаку озимого 87–2/6.

Після цього провели схрещування виділених стерильних форм з відновлювачем фертильності. В результаті подальшого самозапилення одержаних рослин отримали фертильні та стерильні форми в співвідношенні, наближеному до значення 3:1 (рис. 1).

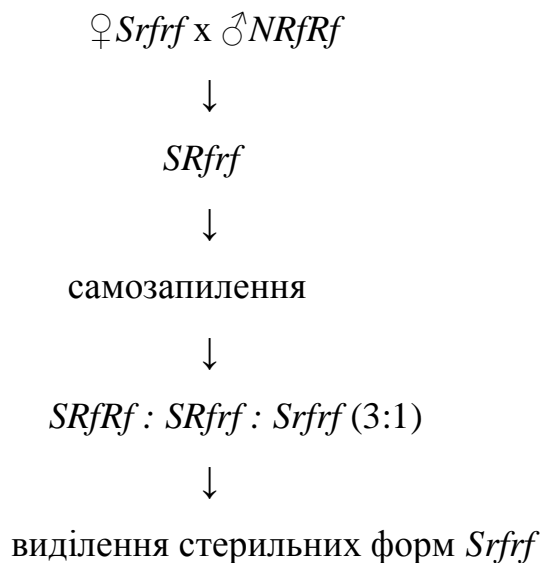


Рис. 1. Схема отримання стерильних форм

♀*Srfrf* — стерильний материнський компонент, ♂*NRfRf* — батьківський компонент-відновлювач фертильності, *SRfrf* — гібридна гетерозиготна форма, *Srfrf* — стерильна форма, *SRfRf*, *SRfrf* — фертильні форми

Серед фертильних форм, одна частина рослин містила гени «закріплення стерильності-відновлення фертильності» *Rf* у гомозиготному стані, а дві — ці гени у гетерозиготному стані.

Оскільки закріплювачі стерильності мають містити нормальну (нестерилізуючу) цитоплазму *N* та рецесивні гени *rf* у гомозиготному стані, необхідно було перенести гени закріплення стерильності до *N*-цитоплазми. Тому наступним етапом стало схрещування донора *N*-цитоплазми сорту ріпаку озимого Вотан з формами, від попереднього схрещування, що містили алелі гена *Rf* у гетерозиготному стані (рис. 2).

У результаті такого схрещування отримали рослини з *N*-цитоплазмою, які містили алелі гена *Rf* як у гомозиготному, так і у гетерозиготному стані.

Самозапилення одержаних форм, потомство від якого було фертильним, засвідчило неможливість суто ядерного контролю ознаки «стерильність»,

оскільки за ядерного контролю спостерігалось б розщеплення на стерильні та фертильні форми.

$$\begin{array}{c}
 \text{♀}NRfRf \times \text{♂}SRfrf \\
 \downarrow \\
 NRfRf : NRfrf (1:1) \\
 \downarrow \\
 \text{аналізуюче схрещування} \\
 Srfrf \times NRfrf \rightarrow Srfrf : SRfrf (1:1) \\
 Srfrf \times NRfRf \rightarrow SRfrf
 \end{array}$$

Рис. 2. Схема одержання форм з нормальною цитоплазмою

♀*NRfRf* — материнська форма сорт Вотан, ♂ *SRfrf* — батьківська форма, *NRfRf*, *NRfrf* – відповідно гомо- та гетерозиготна форма з нормальною цитоплазмою

Гетерозиготні форми, отримані від попереднього схрещування, виділили після проведення аналізуючого схрещування зі стерильними формами. Потомство від такого схрещування розщеплювалось на стерильні та фертильні рослини у співвідношенні 1:1. Це довело, що тип стерильності виділених стерильних форм є ядерно-цитоплазматичним. При цьому потомство гомозиготних форм з домінантними алелями гена *Rf* було фертильним. Для подальшої роботи використали форми з N-цитоплазмою, які в аналізуючих схрещуваннях із стерильними рослинами дали стерильних та фертильних нащадків. З метою виділення закріплювачів стерильності провели самозапилення та схрещування цих форм зі стерильними рослинами (рис. 3).

Рослини, отримані в результаті самозапилення, розщеплювались на три групи: гомозиготні за алелем *Rf*, гетерозиготні та гомозиготні за алелем *rf*. Співвідношення рослин цих груп наближалось до значення 1:2:1.

Досліджуючи потомство від схрещування зі стерильними формами виділяли закріплювачі стерильності. Рослини, одержані за такого схрещування, давали лише стерильне потомство і були закріплювачами стерильності.

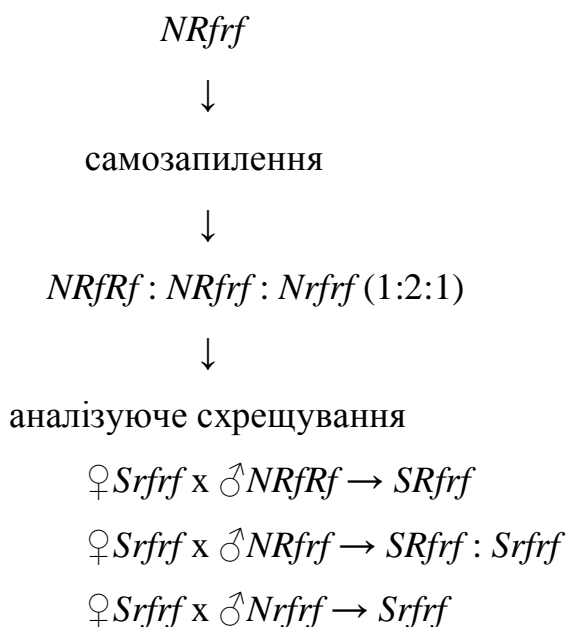


Рис. 3. Схема виділення закріплювачів стерильності

Srfrf — стерильна форма, *NRfRf* — форма-відновлювач фертильності з нормальною (нестерилізуючою) цитоплазмою, *SRfrf* — гетерозиготна фертильна форма, *Nrfrf* — форма-закріплювач стерильності

У процесі застосування способу отримання закріплювачів гензалежної цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції ріпаку провели 56 аналізуючих схрещувань та виділили 12 закріплювачів стерильності.

Адаптація та застосування розробленого для буряка способу створення закріплювачів стерильності з використанням виділених з популяції стерильних форм у селекції ріпаку довів свою ефективність. Використання цього способу дало можливість отримати закріплювачі стерильності ріпаку.

Висновки. Адаптовано для використання в селекції ріпаку спосіб створення закріплювачів стерильності, розроблений для буряка цукрового. Встановлено, що стерильність виділених стерильних форм ріпаку належать до

ядерно-цитоплазматичного типу. Застосування способу створення закріплювачів стерильності довело його ефективність і дало можливість отримати 12 закріплювачів стерильності ріпаку.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. А. с. 1677889 СССР, Способ получения закрепителей цитоплазматической мужской стерильности растений сахарной свеклы /Ф. Н. Парий, М. Л. Парий, В. В. Нуждина (СССР).

2. Рапс, сурепица / [Гольцов А. А., Ковальчук А. М., Абрамов В. Ф., и др.]. — М.: Колос, 1983. — 192 с.

3. Ріпак: Ботанічна характеристика. Біологічні особливості. Селекція і насінництво. Технологія вирощування. Використання / [Гайдаш В. Д., Климчук М. М., Макар М. М., та ін.]. — Івано-Франківськ: Сіверсія, 1998. — 223 с.

4. Черненко А.Д. Новий тип цитоплазматичної чоловічої стерильності: матеріали Всеукр. наукової конференції молодих учених, (Умань, 18–19 лютого 2010 р.) / М-во аграрної політики, Уманський національний університет садівництва. — Умань: Уманський національний університет садівництва, 2010. — С. 167.

5. Chase C. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by nuclear genes / Christine D. Chase, S. Gabay-Laughan // *Molecular biology and biotechnology of plant organelles*. — Dordrecht: Springer Netherlands, 2004. — P. 592–622.

6. Eckardt N. Cytoplasmic male sterility and fertility restoration / N. Eckardt // *The plant cell*. — 2006. — Vol. 18. — № 3. — P. 1295–1304.

7. Rakousky S. Transgenic plant products and their introduction into the environment and crop protection systems, a risk assessment // *Genomics for biosafety in plant biotechnology* / edited by Jan-Peter Nap, Atanas Atanassov, Willem J. Stiekema. — Amsterdam Netherlands, IOS Press, 2004. — P. 173–184.

8. Snowdon R. Oilseed rape. / R. Snowdon, W. Luhs, W. Friedt // *Oilseeds. Genome mapping and molecular breeding in plants*. — Berlin, 2007. — P. 55–115.

Получение закрепителей гензависимой цитоплазматической мужской стерильности рапса

А.Д. Черненко, аспирант

Ф.М. Парий, доктор биологических наук

Приведены результаты адаптации и применения в селекции рапса способа создания закрепителей стерильности, разработанного для сахарной свеклы с использованием выделенных из природной популяции, или созданных другими способами стерильных форм.

Ключевые слова: *гензависимая цитоплазматическая мужская стерильность, стерильная форма, фертильная форма, закрепитель стерильности.*

Production of oilseed rape cytoplasmic male sterility fixers

A.D. Chernenko, postgraduate student

F.M. Pariy, doctor of biological sciences

The results of adaptation and using in rapeseed breeding the method of sterility fixers creation developed for sugar beet and sterile forms sorted out from natural population or created by other methods are given.

Key words: *cytoplasmic male sterility, sterile form, fertile form, sterility fixer.*