

СХЕМА СОЗДАНИЯ ДВУХЛИНЕЙНЫХ ГИБРИДОВ КАПУСТНЫХ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР НА ОСНОВЕ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ

Г.Ф. МОНАХОС, д. с.-х. н.

(Селекционная станция им. Н.Н. Тимофеева)

Представлена детальная генетическая схема создания двухлинейных F1 гибридов капустных культур на основе самонесовместимости, которая включает пять этапов: I — отбор самонесовместимых растений, оценка общей и специфической комбинационной способности; II — гибридологический анализ на гомо- и гетерозиготность по S-аллелям, отбор S-гомозигот и оценка их специфической комбинационной способности; III — инбридинг и отбор для гомозиготизации по морфологическим признакам, оценка специфической комбинационной способности; IV — поддержание и размножение самонесовместимых линий; V — производство гибридных семян.

В последние годы произошли существенные изменения в овощеводческой отрасли нашей страны. Развитие промышленного овощеводства вокруг крупных городов шло по пути внедрения современных зарубежных индустриальных технологий. Одновременно изменился сортовой состав овощных культур — на смену сортов-популяций пришли F1 гибриды отечественной и зарубежной селекции. Так, в Московской и Ленинградской областях 98% площади, занятой под белокочанной капустой, приходится на F1 гибриды, причем на долю отечественных — лишь 25%.

Семена зарубежных гибридов, поставляемые на рынок России, чаще обладают более высокими посевными качествами — они, как правило, откалиброваны по размерам, обработаны специальными агрохимикатами и обладают близкой к 100%-й всхожестью, что важно при кассетной технологии выращивания рассады.

Селекция F1 гибридов капустных культур базируется на использовании физиологической спорофитной самонесовместимости и цитоплазматической мужской стерильности. В нашей стра-

не большинство F1 гибридов создано на основе самонесовместимости.

Под самонесовместимостью понимают неспособность перекрестноопыляющихся растений, имеющих функциональные женские и мужские гаметы, завязывать семена при самоопылении. Впервые этот термин был введен Стоутом [10]. Первый коммерческий гибрид белокочанной капусты с использованием самонесовместимости FI Suteki был создан в 1938 г. в Японии Синохарой [9]. Гибридные семена получали переопылением двух самонесовместимых вегетативно размножаемых клонов из сортов Succession и Nakano-Wase.

Пирсон [8] впервые установил, что самонесовместимость изменяется в онтогенезе цветка и не проявляется в фазу бутона. Он предложил размножать самонесовместимые растения гетерогамным самоопылением вручную вскрытых бутонов. Однако массовую селекцию коммерческих F1 гибридов начали вести в конце 50-х гг. после выяснения генетики самонесовместимости.

В настоящее время известно несколько схем, которые различаются

по сложности выполнения, числу скрещиваемых линий, выравненности получаемых гибридов и затратам на размножение родительских компонентов.

В нашей стране изучение генетики самонесовместимости и возможности её практического использования в селекции начато в 1963 г. проф. А.В. Крючковым в МСХА имени К.А. Тимирязева. Им была разработана и в 1977 г. опубликована четырехлинейная схема [3], с использованием которой создано большинство отечественных F1 гибридов. Основное преимущество этой схемы заключается в значительном снижении затрат на размножение родительских линий. Она предусматривает создание изогенных пар, имеющих одни и те же аллели генов, контролирующих хозяйственные признаки, и различающихся лишь по паре аллелей гена самонесовместимости. Изогенные пары самонесовместимых линий размножают гейтеногамным опылением вручную вскрытых бутонов. Свободным переопылением растений линий одной изогенной пары получают семена родительских линий, используемых в товарном производстве гибридных семян. Таким образом, родительские линии размножают в два этапа с использованием ручного труда лишь на первом, при этом они являются гетерозиготами только по одной паре S-аллелей и гомозиготами по всем остальным генам.

Четырехлинейная схема отличается сложностью в исполнении, требует большого объема скрещиваний и высокой квалификации научных сотрудников.

За рубежом чаще используют двухлинейную схему, которая проста в исполнении и позволяет оперировать с большим количеством селекционного материала. Кроме того, двухлинейные гибриды обеспечивают более эффективную биологическую защиту авторских прав, так как все растения F1

гибрида являются гетерозиготами по одной паре S'-аллелей и не скрещиваются друг с другом. Это не позволяет недобросовестным производителям семян репродуцировать F2. Растения четырехлинейных гибридов скрещиваются друг с другом, так как представлены гетерозиготами по разным парам S-аллелей.

И все же главным достоинством двухлинейных гибридов является их более высокая выравненность по хозяйственным признакам.

Основной недостаток двухлинейной схемы — трудности, связанные с размножением самонесовместимых линий, которое осуществляется главным образом гейтеногамным опылением вручную вскрытых бутонов. Однако разработка эффективных способов преодоления самонесовместимости путем обработки высокой концентрацией CO₂ (3~4% через 2 ч после опыления, экспозиция 5 ч) [5] или обработка рылец пестиков раствором NaCl в концентрации 30-40 г/л за 20-30 мин до опыления [6] позволили снизить стоимость семян инбредных самонесовместимых линий и создали новые перспективы селекции двухлинейных F1 гибридов.

Вместе с тем в отечественной литературе опубликована лишь одна схема выведения двухлинейных гибридов капусты на основе самонесовместимости [4], в которой имеется один существенный недостаток — ни на одном из этапов создания инбредных самонесовместимых линий не предусмотрен гибридологический анализ на гомо- и гетерозиготность по аллелям гена самонесовместимости.

В связи со сложностью четырехлинейной схемы в большинстве селекционных учреждений РФ и стран СНГ селекцию F1 гибридов пытаются вести по двухлинейной схеме. Исходя из этого, считаем актуальным опубликование такой детальной схемы, основанной на реальном практическом опыте создания F1 гибридов, не уступа-

ющих зарубежным по выравненности, урожайности, лежкости и устойчивости к основным заболеваниям.

Селекция таких F1 гибридов зависит от качества родительских линий, которые должны удовлетворять следующим требованиям:

1 — быть гомозиготами по аллелям гена самонесовместимости, обладать высоким уровнем её проявления и высокой перекрестной совместимостью с линиями, имеющими другие 5-аллели при естественном скрещивании насекомыми;

2 — быть гомозиготными по большинству генов, контролирующих хозяйственные признаки. Гомозиготность достигается применением инбридинга и отбором наиболее выравненных потомств в 6-8 поколений или использованием методов гаплоидной селекции;

3 — обладать высокой комбинационной способностью, для чего проводят скрещивания в различных схемах, оценку гибридов и отбор родительских линий на основе вычисления эффектов общей и специфической комбинационной способности;

4 — обладать генетической устойчивостью к наиболее вредоносным заболеваниям.

Схема селекционного процесса включает пять этапов (рис. 1).

На первом этапе в исходном коллекционном материале выделяют самонесовместимые растения и оценивают их на комбинационную способность. Для этого осенью после комплексного изучения и оценки на провокационных фонах и с учетом поставленной цели -селекции из сортовых и гибридных популяций отбирают маточные растения и пересаживают в зимнюю теплицу, где поддерживают яровизирующую температуру 4-6°C. Весной в начале цветения на каждом растении изолируют по 2-3 соцветия, на которых автогамно самоопыляют по 5 — 6 цветков после их раскрытия и гейтеногамно опыляют по 8-12 вскрытых вручную бутонів. Через три недели

подсчетом семян в незрелых стручках анализируют степень проявления самонесовместимости и растения со строгим ее проявлением (завязываемость не более 1 семени на стручок) используют в гибридизации для оценки общей и специфической комбинационной способности. Наиболее полную информацию о комбинационной способности получают при использовании полной диаллельной схемы скрещиваний. При этом в скрещивания включают как растения из разных образцов, так и растения из одного сорта, так как часто внутрисортные различия по комбинационной способности бывают такими же и даже большими, чем межсортные.

На следующий год изучают F1 гибриды и инбредные потомства родительских компонентов по хозяйственным признакам и проводят фитопатологическую оценку на инфекционных фонах. По результатам испытания F1 гибридов определяют общую и специфическую комбинационную способность и в потомствах родителей, проявивших наиболее высокие показатели, отбирают лучшие маточные растения в количестве не меньше 13 шт. и высаживают в теплицу. Такое количество обеспечивает с вероятностью 0,95 наличие в потомстве обеих S'-гомозигот, что важно для успешного гибридологического анализа на втором этапе. При посадке маточников руководствуются следующим правилом — первыми высаживают самые лучшие растения.

При селекции скороспелой белокачанной капусты, брокколи, кольраби, пекинской капусты и репы эту генетико-селекционную работу можно провести в год получения семян при летнем посеве гибридов и инбредных потомств (15-20 июня).

На втором этапе проводят гибридологический анализ на гомо- и гетерозиготность по S'-аллелям, отбор S-гомозигот и оценку их специфической комбинационной способности.

Растения, отобранные в сортовых популяциях, являются S-гетерозиго-

I
Отбор самонесовместимых растений, оценка ОКС и СКС

II
Гибринологический анализ на гомо- и гетерозиготность по S-аллелям, отбор S-гомозигот, оценка СКС

III
Инбрединг и отбор для гомозиготизации по морфологическим признакам, оценка СКС

IV
Поддержание и размножение самонесовместимых линий

V
Производство гибридных семян

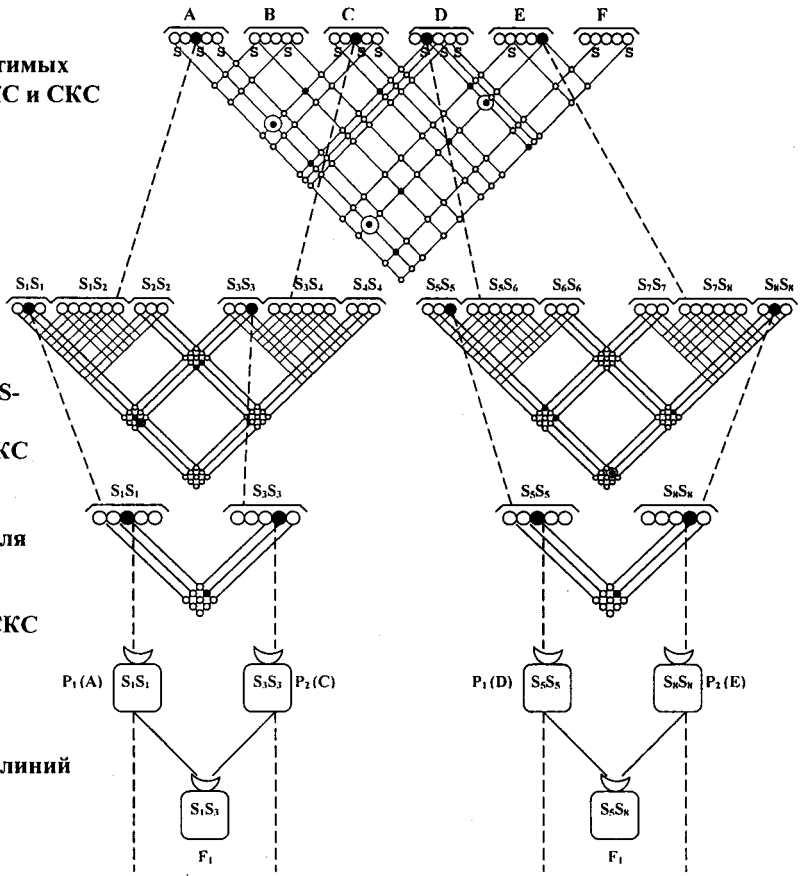


Рис. 1. Схема создания самонесовместимых линий и получения семян 2-линейных гибридов капустных овощных культур

тами, поэтому каждое инбредное потомство состоит из гомозигот по доминантному аллелю, гетерозигот и гомозигот по рецессивному аллелю в соотношении 1:2:1. В системе полных диаллельных скрещиваний по результатам анализа взаимной совместимости растений каждого инбредного потомства определяют тип взаимодействия S-аллелей в пыльце и рыльце пестика и проводят идентификацию гомозигот и гетерозигот по аллелям гена несовместимости. Генетические особенности спорофитной системы несовместимости капустных культур описаны Бейтманом [7]. Эта система обладает следующими основными свой-

ствами, которыми следует руководствоваться при гибринологическом анализе.

1. Несовместимость контролируется одним локусом с множественными аллелями;

2. Реакция пыльцы определяется генотипом спорофитной ткани, в которой она сформировалась, поэтому все пыльцевые зерна имеют одну и ту же реакцию несовместимости;

3. Взаимодействие между аллелями доминантно-рецессивное или независимое (кодоминантное);

4. Идентичность активных аллелей в пыльце и рыльце пестика приводит к несовместимости;

5. Взаимодействие в пыльце и рыльце может быть как одинаковым, так и различным, поэтому возможен один из пяти типов, представленных на рис. 2.

Вследствие разных взаимоотношений S-аллелей в пыльце и рыльце пестика генотипы в инбредном потомстве от гетерозиготного по S-аллелям растения могут быть при скрещивании друг с другом как совместимы, так и несовместимы.

В I, II, III и IV типах взаимодействия все растения с одинаковым генотипом не скрещиваются друг с другом. Гомозиготы по разным аллелям реципрокно совместимы друг с другом.

Гетерозиготы реципрокно несовместимы с гомозиготами по доминантному аллелю. При скрещивании гетерозигот с рецессивными гомозиготами взаимная совместимость зависит от типа взаимодействия: при I типе они

I тип:
в пыльце $S_1 > S_2$
в рыльце $S_1 > S_2$

♀ \ ♂	$S_1 S_1$	$S_1 S_2$	$S_2 S_2$
$S_1 S_1$	S	S	F
$S_1 S_2$	S	S	F
$S_2 S_2$	F	F	S

II тип:
в пыльце $S_1 > S_2$
в рыльце $S_1 : S_2$

♀ \ ♂	$S_1 S_1$	$S_1 S_2$	$S_2 S_2$
$S_1 S_1$	S	S	F
$S_1 S_2$	S	S	S
$S_2 S_2$	F	F	S

III тип:
в пыльце $S_1 : S_2$
в рыльце $S_1 > S_2$

♀ \ ♂	$S_1 S_1$	$S_1 S_2$	$S_2 S_2$
$S_1 S_1$	S	S	F
$S_1 S_2$	S	S	F
$S_2 S_2$	F	S	S

IV тип:
в пыльце $S_1 : S_2$
в рыльце $S_1 : S_2$

♀ \ ♂	$S_1 S_1$	$S_1 S_2$	$S_2 S_2$
$S_1 S_1$	S	S	F
$S_1 S_2$	S	S	S
$S_2 S_2$	F	S	S

V тип:
в пыльце $S_1 > S_2$
в рыльце $S_1 < S_2$

♀ \ ♂	$S_1 S_1$	$S_1 S_2$	$S_2 S_2$
$S_1 S_1$	S	F	F
$S_1 S_2$	F	F	F
$S_2 S_2$	F	F	S

Рис. 2. Схема типов взаимодействия S-аллелей в потомстве S-гетерозиготы у капустных культур.

$S_1 > S_2$ — доминирование S_1 над S_2 ; $S_1 : S_2$ — независимое действие S-аллелей; S, F — несовместимая и совместимая комбинация скрещивания.

реципрокно совместимы, при IV типе — реципрокно несовместимы. При II типе гетерозиготы не завязывают семян при опылении рецессивными гомозиготами, однако совместимы при скрещивании в обратном направлении. При III типе, наоборот, гетерозиготы совместимы с рецессивными гомозиготами при их использовании в качестве материнских и несовместимы в качестве отцовских растений.

Анализ результатов взаимной совместимости полученных при подсчете семян, завязавшихся в стручках каждой комбинации скрещивания, проводят с помощью решетки Пеннета [2]. Сначала в решетке Пеннета все растения располагают в порядке нумерации и записывают полученные результаты. Затем выбирают комбинации скрещивания, в которых растения реципрокно совместимы друг с другом. При II, III и IV типах взаимодействия ими могут быть только гомозиготы по разным S-аллелям. Одна из этих гомозигот, дающая больше совместимых скрещиваний при II и III типе, является рецессивной, другая — доминантной. При IV типе обе гомозиготы кодоминантны и в рыльце, и в пыльце, поэтому различий по количеству совместимых скрещиваний практически не наблюдается и их мало (12,5%). При I типе взаимодействия рецессивная гомозигота реципрокно совместима со всеми остальными генотипами как с гомозиготами по доминантному S-аллелю, так и с гетерозиготами.

После такого анализа совместимости составляется новая решетка Пеннета, в которой компоненты скрещиваний располагают согласно их S-генотипу: в верхней части доминантные гомозиготы, в средней — гетерозиготы и в нижней — рецессивные гомозиготы. Отцовские компоненты располагают в том же порядке. В ячейки решетки записывают результаты завязываемости семян в стручках и уточняют правильность определения S-генотипа каждого растения.

Таким образом, при II, III и IV типах взаимодействия S-аллелей в результате гибридологического анализа можно идентифицировать S-генотип каждого растения. При I типе возможно выделить лишь гомозиготы по рецессивному S-аллелю, а гомозиготы по доминантному и гетерозиготы не различаются. При необходимости выделения гомозигот по доминантному S-аллелю проводят анализ в следующих поколениях, используя потомство рецессивной гомозиготы в качестве тестера. В случае, когда все растения анализируемого потомства взаимно скрещиваются с этим тестером, это потомство является доминантной гомозиготой, если же четверть растений не скрещивается, а остальные скрещиваются, то это потомство от гетерозиготы.

Растения с V типом взаимодействия S-аллелей в селекционной работе не используют, так как они в гетерозиготном состоянии самосовместимы и их выбраковывают еще на первом этапе селекционного процесса.

Следующее мероприятие, проводимое на этом этапе, — оценка специфической комбинационной способности идентифицированных S-гомозигот. В гибридизацию включают в первую очередь доминантные гомозиготы, а если S-аллели пары не различаются по самонесовместимости и проявляют её высокий уровень, то можно использовать и рецессивные (особенно при IV типе взаимодействия, когда они вообще кодоминантны).

Гибридизацию проводят по схеме взаимного топкросса, т. е. 4-5 растений (5-гомозиготы) из линии одного сорта реципрокно скрещивают с 4-5 растениями линии из другого сорта в комбинациях, показавших высокий гетерозисный эффект на первом этапе селекционного процесса. От всех участвующих в скрещивании растений получают инбредные потомства гейтенгомамным опылением вручную вскрытых бутонов.

На следующий год высаживают в поле и оценивают по комплексу хозяйственных признаков F1 гибриды и родительские линии. В родительских линиях лучших F1 гибридов отбирают по 5-6 маточных растений для дальнейшего инбридинга с целью гомозиготизации по хозяйственным признакам и оценки на специфическую комбинационную способность, выполняемых на третьем этапе.

После четырех-пяти поколений инбридинга и отбора линии в достаточной мере гомозиготны по хозяйственным признакам и пригодны для получения гибридных семян в количествах, необходимых для станционного испытания и передачи в Государственное сортоиспытание.

Четвертый этап включает поддержание и размножение родительских линий. Самонесовместимые линии размножают гейтеногамным опылением вручную вскрытых бутонов или перепылением растений каждой линии на изолированном участке с помощью насекомых после преодоления самонесовместимости обработкой CO₂ или раствором NaCl. Так как на проявление самонесовместимости оказывают влияние полигены-модификаторы [1], использование последних двух способов может привести к увеличению доли растений со слабой самонесовместимостью (такие растения всегда будут давать больше семян, чем строго самонесовместимые).

Исходя из этого предлагаем проводить размножение самонесовместимых линий в два этапа. Первый этап — поддержание линий. На этом этапе маточные растения выращивают до фазы технической спелости кочана, строго отбирая по морфологическим и хозяйственным признакам. В начале цветения на всех растениях изолируют 3-4 побега и на каждом опыляют автогамно 5-6 цветков, для получения семян гейтеногамно по 10-12 бутонов. Подсчетом семян, завязавшихся в стручках, оценивают уровень самонесовме-

стимости, и потомства растений с более строгой самонесовместимостью используют для второго этапа размножения линии в количестве, необходимом для промышленного семеноводства. На этом этапе индукцию перехода к генеративной стадии развития маточных растений осуществляют на более ранних этапах онтогенеза (фаза начала формирования кочана). Это позволяет снизить влияние инбредной депрессии семенных растений, а размножение проводят обработкой CO₂ или раствором NaCl при свободном перепылении пчелами или шмелями.

На пятом этапе разрабатывают промышленную технологию семеноводства F1 гибридов применительно к различным природно-климатическим зонам; выявляют оптимальные сроки посева, обеспечивающие полное прохождение яровизации и максимальную семенную продуктивность; изучают синхронность цветения родительских линий и способы её регулирования.

Переход на селекцию F1 гибридов позволяет использовать наиболее дешевый беспересадочный способ семеноводства в зоне субтропиков. В связи с полной гомозиготностью самонесовместимых родительских линий на участках гибридизации исключается необходимость проведения наиболее трудоемкой работы — отбора маточников, ограничиваются лишь двукратной прочисткой, удаляя при этом мутантные растения и примеси при их наличии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гутиэррес А.* Проявление самонесовместимости у линий белокочанной капусты в зависимости от состояния цветка и условий выращивания растений. Автореф. канд. дисс. М., 1977. — 2. *Крючков А.В.* Способы выделения гомозиготных по аллелям самонесовместимости растений капусты (при выведении самонесовместимых инбредных линий) // Докл. ТСХА, 1974. Вып. 197.

С. 115-121. — 3. *Крючков А.В.* Схема выведения четырехлинейных гибридов на основе самонесовместимости // Изв. ТСХА, 1977. Вып. 1. С. 124-131. — 4. *Крючков А.В.* Гетерозисная селекция капусты / Метод, указания по селекции капусты. М., 1989. С. 8-23. — 5. *Крючков А.В., Крашенинник Н.В., Осыко Е.В.* Влияние повышенных концентраций углекислого газа на проявление самонесовместимости в потомстве инбредных линий белокочанной капусты // Сб. науч.

тр. ВНИИССОК, 1989. Вып. 28. С. 67-70. — 6. *Монахов Г.Ф., Абдул Хамид.* Использование хлорида натрия при размножении самонесовместимых линий белокочанной капусты // Изв. ТСХА, 2001. Вып. 2. С. 73—80. — 7. *Bateman A.J.* // *Heredity* 9, 1955. P. 53-68. — 8. *Pearson O.H.* // *Calif. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 1932. — 9. *Shinohara S.* Principles of vegetable seed production. Tokyo, Japan, 1981. — 10. *Stout A.B.* // *Am. J. Botany*, 4, 1917. P. 375-395.

SUMMARY

Detailed genetic scheme of bilinear FI cabbage cultivar hybrids is represented in the article. This very scheme is based upon self-incompatibility including five stages: I — selection of self-incompatible plants, estimation of general and specific combination ability; II — hybridological analysis to homo- and heterozygosity in S-alleles, S-homozygotes selection and estimation of their specific combination ability; III — inbreeding and selection for homozygotization according to the morphological signs, estimation of specific combination ability; IV — maintenance and multiplication of self-incompatible lines; V — hybrid seeds production.