Лекція 12.

ВІДДАЛЕНА ГІБРИДИЗАЦІЯ РОСЛИН ТА ЇЇ ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ

1. Історія розвитку на прикладі польових, плодових і овочевих культур.
2. Міжвидові та міжродові гібриди.
3. Подолання несхрещуваності та стерильності віддалених гібридів.
4. Особливості формоутворення при віддаленій гібридизації.
5. Використання віддаленої гібридизації в селекції рослин.
6. Соматична гібридизація і химерні рослини.

Віддаленою гібридизацією називають схрещування між організмами, що належать до різних видів чи родів (міжвидова і міжродова гібридизація).

Метою віддаленої гібридизації є :

– поліпшення виду передачею йому однієї або кількох ознак від іншого виду;

– нове вираження ознаки, не властиве жодному із батьків, внаслідок комплементарної взаємодії генів;

– отримання алоплоїдних видів поєднанням кількості наборів хромосом двох видів;

– одержання ефекту гетерозису у віддалених гібридів.

1. Історія розвитку

Віддалена гібридизація має більше ніж 200-річну історію. Ще в 1760 р. нім. ботанік Й.Г. Кельрейтер отримав перший віддалений гібрид, схрестивши два види тютюну. У наступні роки здійснив схрещування і дістав гібриди від 50 різних видів. Й.Г. Кельрейтер довів, що безплідність гібридів першого покоління можна подолати методом повторного запилення однією з батьківських форм. Він вперше відмітив також явище гетерозису у гібридів першого покоління.

Ч. Дарвін у праці "Походження видів" і наступних дослідженнях показав, що поповнення асортименту культурних рослин пов'язаний з гібридизацією форм не тільки всередині виду, а й між видами та родами.

Іван Володимирович Мічурін, створивши на основі методу віддаленої гібридизації низку цінних сортів плодових та ягідних культур, показав її велике практичне значення.

Велику увагу вивченню віддаленої гібридизації приділяв амер. селекціонер Л. Бербанк. Широко відомі створені ним *плумкоти* – гібриди сливи (*Prunus*) і абрикоса (*Armeniace*).

Вагомий внесок у розвиток віддаленої гібридизації зробив Микола Іванович Вавілов. Зібрані ним і його співробітниками колекції різних культур стали джерелом створення цінних гібридних сортів сільськогосподарських культур.

Особливе значення для розвитку віддаленої гібридизації мають дослідження Г.Д. Карпеченка по створенню гібрида (міжвидового) редьки і капусти.

Значний внесок у теорію і практику віддаленої гібридизації зробили Г.К. Мейстер і Н.Г. Мейстер – щодо схрещування пшениці з житом; О.П. Шехурдін, А.О. Сапєгін, – твердої пшениці з м'якою; М.Ф. Терновський – гібридизації культурних і диких видів тютюну та інші.

2. Міжвидові та міжродові гібриди

Прикладом міжвидової гібридизації може бути схрещування різних видів пшениці *Tr. aestivum* (2n = 42) та *Tr. durum* (2n = 28) Таким чином Ф.Г. Кириченко одержав одні з перших сортів твердої озимої пшениці Мічурінка і Новомічурінка.

Прикладом міжродової гібридизації є створення І.В.Мічуріним гібриду вишні (*Cerasus* Mill.) та черемхи (*Padus* Mill.) – церападус.

За допомогою віддаленої гібридизації створено гібриди пшениці і пирію, що відзначаються високою продуктивністю (до 300–450 ц/га зеленої маси) та стійкістю до

полягання; пшениці і жита (тритікале); китайської цукрової тростини з дикими видами, що сприяло підвищенню цукристості.

Відомі міжвидові гібриди і серед плодових культур (малини та ожини, сливи і терену, горобини й сибірського глоду тощо).

Віддалена гібридизація є одним із найпоширеніших способів одержання вихідного матеріалу для селекції. Шляхом схрещування культурних рослин з видами природної фауни, а також з філогенетично віддаленими культурними формами можна одержати нові цінні сорти, що мають високі показники продуктивності, резистентності проти шкідників і хвороб, стійких до несприятливих ґрунтово-кліматичних умов, з хорошою якістю продукції.

Щоправда селекціонери часто стикаються з проблемою безплідності міжвидових гібридів.

3. Подолання несхрещуваності та стерильності віддалених гібридів

Головною причиною несхрещуваності видів рослин є несумісність їх генотипів.

Несхрещуваність може проявлятися таким чином:

– біохімічна несумісність хромосом одного виду і цитоплазми іншого.
– не проростання пилку;
– надто повільне проростання пилку, що унеможливлює запліднення;
– не злитті гамет (порушення подвійного запліднення);
– порушення ембіогенезу (загибель зародка на ранній стадії розвитку).

Пилкове зерно може залишатися на приймочці й не проростати, або ж з різних причин пилкова трубка, що росте, не досягає зародкового мішка. Один із факторів гальмування росту пилкових трубок – дія інгібіторів, що виділяються у стовпчику маточки віддаленого компонента. Відіграють роль також числове взаємовідношення хромосом батьківських форм та якісний склад їх генів.

На проростання пилку зокрема і утворення в цілому гібридного насіння впливає те, яка рослина виступає у ролі материнської. Наприклад, при гібридизації пшениці із пирієм кількість насіння може досягти 25–90% у випадку, якщо материнською рослиною буде пшениця. Якщо ж за материнську рослину взяти пирій, гібридні зерна зав’язуються лише в окремих квітках.

На схрещування видів також можуть впливати температура, вологість повітря, а також вік рослин та ступінь генеральних органів.

Найбільш поширеними засобами підвищення ефективності віддаленої гібридизації є добір форм, що добре схрещуються, та розширення об'ємів досліджень. Але разом з цим з метою подолання труднощів при схрещуванні віддалених форм рослин застосовують різноманітні спеціальні м е т о д и :

– обробка маточок стимуляторами росту (фізіологічно активними речовинами);
– культивування зародка на живильному середовищі;
– зміна плоїдності батьківських форм;
– запилення сумішшю пилку;
– попереднє вегетативне зближення;
– метод посередника.

Так, обробка зав'язі *β*-нафтилоцтовою кислотою сприяє заплідненню при гібридизації яблуні і груші, а також різних видів конюшини.

Є дані про те, що речовини, які виділяються з приймочки, гальмують проростання пилку іншого виду. Отже, шляхом змивання приймочки можна підвищити успіх віддаленої гібридизації.

Методом запилення сумішшю пилку отримані гібриди між яблунею і грушею, вишнею і черемхою, абрикосом і сливою. Дієвість цього методу пояснюється посиленням ферментативних процесів у маточці під впливом суміші пилку, що сприяє проростанню пилку запилювача.

Використовуючи *метод попереднього вегетативного зближення*, живці однієї рослини прищеплюють у крону іншої, наприклад, яблуні на грушу. При зростанні тканих прищеплених рослин може змінюватися хімічний склад генеративних органів, у результаті чого стимулюється проростання пилку одного виду в маточці іншого виду.

Метод посередника використовують у випадку, коли вибрані для схрещування види безпосередньо між собою не схрещуються, але можна провести попереднє схрещування із іншим, більш спорідненим видом. Уявімо, що вид А не схрещується із віддаленим видом В, але останній легко схрещується з іншим видом С. Тоді спочатку схрещують види В і С між собою, а потім отриманий гібрид, т.з. посередник, схрещують з видом А.

F_1 $(B \times C) \times A$

Цей метод І.В. Мічурін успішно застосував при створенні морозостійкого великоплідного персика на основі культурного південного (*Pezsica vulgaris*) та дикого мигдалю степового (*Amygdalus nana*). Пряме схрещування цих видів неможливе. Тоді І.В.Мічурін схрестив дикий мигдаль із персиком Давиді (*Pezsica davidiana*) та F_1 з персиком південним (*Pezsica vulgaris*). У подальшому цей метод із успіхом застосовували при схрещуванні різних видів тютюну, картоплі.

Цей метод, як і два попередні, були розроблені І.В. Мічуріним та використані при створені багатьох віддалених гібридів плодових культур.

Віддалені гібриди, особливо у першому поколінні, досить часто бувають безплідними чи дуже знижену плодовитість.

Це обумовлено таким п р и ч и н а м и :

– порушення гаметогенезу (утворення бівалентів, унівалентів);
– недорозвинення генеративних органів (найчастіше – пиляків);
– порушення процесів мейозу.
– структурна дивергенція (відмінність у будові) хромосом різних видів.
– несумісність ядра одного виду та цитоплазми іншого (призводить до цитоплазматичної чоловічої стерильності).

Для подолання стерильності міжвидових гібридів застосовують такі методи:

1. Запилення пилком однієї з батьківських форм (отримання *бекросів*). Як правило для цього застосовують пилок культурних рослин:

F_1 (*T. aestivum* × *Aegilops speltoides)* × *T. aestivum* Це призводить до зав'язування окремих зерен. На наступний рік бекросування повторюють і т.д. Недоліком цього методу є зменшення гібридності із кожним наступним поколінням. Тобто, відбувається повернення до ознак тієї форми, пилком якої відбувалося запилення (гени дикорослої форми втрачаються).

2. Подвоєння числа хромосом (колхіцинуванням), отримання амфідиплоїдів зі збалансованим числом хромосом. Цей метод дає можливість відновлювати фертильність, пов'язану із правильним перебігом методу, але не може усунути такі причини стерильності, викликані недорозвиненням генеративних органів.

3. Реципрокні схрещування. Застосовують при ЦЧС. Так, у комбінаціях

T. timopheevi × *T. aestivum* перше покоління гібридів є стерильним, але якщо у якості материнської форми використовують м'яку пшеницю (*T. aestivum* × *T. timopheevi*), то F_1 є фертильним.

4. Особливості формотворення при віддаленій гібридизації

Віддаленим гібридам F_1 є властивим проміжний тип успадкування ознак. Якщо у схрещування залучені дикі форми рослин, то у F_1 найчастіше домінують їх ознаки. У F_2 (за умови зав'язування життєздатного насіння в F_1) спостерігається широкий спектр формоутворюючих процесів. Це обумовлено:

– випадковим перерозподілом хромосом у мейозі та утворенням анеуплоїдів;
– відмінностями в експресії генів, що знаходяться в гемізиготному стані (одна

доза);

– спонтанними мутаційними процесами (наприклад, окремі хромосоми егілопса та пирію можуть викликати мутації);

– переважна участь у процесах запліднення гамет зі збалансованими наборами хромосом;

– летальність гамет, зигот та насіння зі незбалансованими наборами хромосом.

У схрещуванні видів, генетично більш близьких, у межах ботанічного роду іноді можна частково посилити ту чи іншу властивість одного з батьків. Передача генів може відбуватися в результаті:

– заміщення хромосом одного виду на хромосоми іншого;

– транслокацій (нерегулярні рекомбінації між хромосомами різних видів, сприяють передачі окремих генів чи їх груп).

Другий спосіб є кращим, оскільки "чужі" хромосоми" зазвичай через деякий час повністю елімінуються із геному, спонтанно замінюючись на хромосоми свого виду.

В одержаних шляхом схрещування різних видів та родин рослин у гібридів підвищується стійкість до низьких температур, посухостійкість, стійкість до вилягання, імунність проти хвороб і продуктивність, поліпшується якість продукції.

5. Використання віддаленої гібридизації в селекції рослин

Практична значущість віддалених схрещувань полягає у можливості:

– поліпшувати сорти існуючих культурних рослин (передати в генотип культурної рослини господарсько-цінні гени від рослин іншого виду і навіть родини);

– створювати зовсім нові, невідомі раніше культури. Так були синтезовані *рафанобрасика* (Г.Д. Карпеченко), нові види пшениці (А.Р. Жебрак), пшенично-пирійні гібриди (Н.В. Цицин і Г.Д. Лапченко), *тритікале* (О.І. Державін). Шляхом схрещування різних видів жита Олександр Іванович Державін у 1950 р. створив новий вид – *багаторічне жито*. *Грейпфрут* – гібрид між лимоном і мандарином.

– здійснювати синтез нових видів. Ресинтез здійснений у роді пшениць, вівса, тютюну, бавовнику, сливи, суниці, капусти.

Провідне місце в науці про віддалену гібридизацію належить І.В. Мічуріну (плодові і ягідні культури), В.М. Лебедєву, В.Є. Писарєву, А.Ф. Шулиндіну, Г. К. Мейстеру (схрещування пшениці з житом), М.В. Цицину, С.М. Верушкіну (схрещування пшениць з видами пирію), О.П. Шехурдіну, А.О. Сапегіну (схрещування твердої пшениці з м'якою), С.М. Букасову, О.Н. Камеразу, І.Г. Пушкарьову, А.А. Подгаєцькому (міжвидова гібридизація картоплі), М.Ф. Терновському (міжвидові схрещування тютюну), Г.С. Зайцеву, К.О. Висоцькому (міжвидове схрещування бавовнику). Ф.Г. Кириченку (схрещування твердої ярої пшениці з озимою м'якою і створення твердої озимої пшениці), В.В. Моргуну (схрещування кукурудзи з теосинте).

Багато сортів плодових культур створив на основі віддаленої гібридизації І.В. Мічурін.

1. Сорт груші **Бере зимова Мічуріна**. У якості матері була узята уссурійська дика груша, що відрізняється дрібними плодами, але зимостійка, як батька – південний сорт Бере рояль з великими соковитими плодами. Для обох батьків умови середньої смуги Росії були незвичайними. У гібрида проявилися потрібні селекціонерові якості батьків: плоди були великі володіли високими смаковими якостями, а сама гібридна рослина переносила холод до – 36°.

2. Сорт яблуні **Слов'янка** від схрещування Антонівки з південним сортом Ранетом ананасним.

3. Сорт **Антонівка шестисотграмова** дає врожай з одного дерева до 350 кг.

4. Зимостійкі сорти черешні, мигдалю, винограду, тютюну, олійної троянди та ін.

5. Гібриди між вишнею і черемшиною (*церападуси*), між абрикосом і сливою,

сливою і терном, горобиною і сибірським глодом і ін.

Відомий пшенично-пирійний гібрид Грекум 114, виведений М.В. Циципним та Г.Д. Лапченко. Один із кращих сортів твердої ярої пшениці Харківська 46 було створено укр.. вченими П.І. Кучумовим та В.Я. Юр'євим, шляхом трьох видової гібридизації *Tr. turgidum* × *Tr. diccocum* × *Tr. durum.*

Видатний український селекціонер Ф.Г. Кириченко вперше в історії селекції створив озиму тверду пшеницю. Шляхом схрещування твердої та м якої пшениці він вивів ряд сортів цієї культури – Мічурінка, Новомічурінка.

Селекція із застосуванням віддаленої гібридизації ведеться по картоплі, кукурудзі, тютюну, бавовнику, соняшнику та інших сільськогосподарських рослинах. Важливим є створення віддалених гібридів з високим ступенем гетерозису.

6. Соматична гібридизація і химерні рослини

Соматична гібридизація (синонім – парасексуальна гібридизація) – гібридизація соматичних клітин шляхом злиття їх ізольованих протопластів *(*англ. *Fusion of protoplasts).*

Застосування методології злиття протопластів дозволяє соматично схрещувати філогенетично віддалені види рослин, а також створювати додаткові резерви спадкової мінливості. У нинішній час селекціонер мало зацікавлений у тому, щоб зробити дикі форми культурними. Для нього набагато важливіше передати від «дикуна» до культурної форми окремі гени, які можуть надати стійкості культурним рослинам до біотичних і абіотичних факторів довкілля.

Р.Г. Бутенко і А.А. Кучко (1977) одержали фертильний соматичний гібрид між диким і культурним видами *Solanum chacoence* та *S. Tuberosum*, який характеризується стійкістю до вірусу У. Цей гібрид застосовується у подальших селекційних схрещуваннях.

Для декоративного садівництва викликають інтерес соматичні гібриди Дж. Пауера між видами *Petunia parodi* і *P. parvifolia,* які статевим шляхом не схрещуються. Цим способом до селекції залучено нову ознаку «розгалужений пагін, що стелеться». Х. Шенх одержав соматичний гібрид між капустою і турнепсом (перко). Аналогічних прикладів можна навести дуже багато.

Методами парасексуальної гібридизації створені міжродові та міжтрибні гібриди. Особливий науковий інтерес викликають міжцарственні клітинні гібриди, які одержують шляхом злиття протопластів рослинних і тваринних клітин; наприклад , протопластів еритроцитів щура і дріжджових клітин, протопластів моркви і людини та ін. Одержати рослинно-тваринні «монстри» не вдається тому, що еволюційно закріплений консерватизм передачі спадкової інформації усуває негомологічні хромосоми у метафазі першого мейозу і подальше ділення неможливе.

Спадкова інформація рослинної клітини зберігається в геномі (хромосомах ядра) і цитоплазмоні (ДНК хлоропластів і мітохондрій). Існують методи вилучення або інактивації ядра, що приводить до одержання протопластів без ядра – цитопластів. При злитті протопласта і цитопласта утворюється *соматичний цибрид*. Таким чином, генетична основа соматичного цибрида може складатися з елементів двох цитоплазмонів і одного із ядер батьківських протопластів. Саме тому метод соматичної гібридизації дозволяє одержувати такі форми рослин, що відрізняються сукупністю генів від статевих гібридів, а також створювати нові унікальні комбінації генів (цитоплазматичні гетерозиготи).

Наприклад, при злитті протопластів мезофілу томатів і картоплі були одержані соматичні гібриди, які диференціювали за білковими маркерами на два типи: «помати» (з пластидами від картоплі) і «топати» (з пластидами від томатів).

Спеціалісти вважають, що у гібридів, які об’єднують елементи цитоплазми обох батьків і мають ядро одного з них, перспективне майбутнє. При злитті цитоплазмонів можуть відбуватися рекомбінації мітохондріальних або хлоропластних ДНК, які приводять до створення нових генотипів.

Після одержання соматичних гібридів або цибридів необхідно проводити біохімічний і цитологічний аналіз батьківських форм і гібридів першого покоління за

спеціальними методиками.

Гібридизація соматичних клітин є принципово новою технологією селекційного процесу. Вона дає змогу схрещувати форми і види рослин, для яких схрещування статевим шляхом неможливе. Тобто використовується для подолання несумісності у разі міжвидової гібридизації.

Під час злиття соматичних клітин в їх подальшому культивуванні утворюються гібриди з різною кількістю хромосом. За допомогою гібридизації соматичних клітин між культурним і диким видами картоплі, тютюну отримано цінні форми з господарсько-цінними ознаками.

До недосконалості методу належать труднощі позбавлення від небажаних ознак і одержання стерильних рослин, які обмежують поширення соматичної гібридизації в селекції. Для того, щоб перенести корисні гени з рослин диких видів у культурні, потрібна міжгенна рекомбінація або хромосомне заміщення між ними.

На сьогодні можна окреслити такі потенційні напрями практичного використання соматичної гібридизації:

- утворення нових гібридних форм;
- внесення в геном окремих генів і груп генів, частин і цілих хромосом;
- використання методів соматичної гібридизації для створення ліній з доданими хромосомами;
- дослідження модифікованих ознак, що отримані на рівні клітини методом рекомбінантної ДНК або внаслідок мутагенезу;
- перенесення ознак, локалізованих в органелах, одержання цибридів.

Соматичну гібридизацію можна розглядати як один із засобів генетичної трансформації рослин. У результаті об’єднання рослинних геномів (ядер і цитоплазми) виникають унікальні можливості для одержання нових комбінацій генів, що неможливо одержати класичними методами генетики і селекції.