



Руководство по размножению Кукуруза

Сукетоши Таба¹ и С. Твумаси-Африйе²

¹Международный центр улучшения кукурузы и пшеницы (CIMMYT), Мексика

² CIMMYT, Эфиопия



Введение

Кукуруза (*Zea mays* L. subsp. *mays*) – перекрестно опыляемая, однодомная однолетняя культура, ведущая свое происхождение из южной Мексики, где она появилась, вероятно, вследствие эволюции близкого родича – теосинте. Початки с зерновками располагаются на стебле в междоузлиях средней части растения, а мужские цветки (метелка) находятся на верхушке растения. В Латинской Америке существует более 250 рас и местных сортов кукурузы. У некоторых латиноамериканских рас, произрастающих на средних высотах, вегетационный период длится более 10 месяцев, а некоторым раннеспелым расам требуется менее 3-х месяцев от посева до сбора урожая. Есть расы, достигающие 4 – 5 метров в высоту, что осложняет искусственное опыление. Традиционно селекционеры кукурузы классифицируют экотипы кукурузы по их адаптированности к окружающей среде, в которой их выращивают: те, что произрастают между 26° северной широты и 26° южной широты, подразделяются на тропические (<1200 м н.у.м.), средневысотные (1200 –1900 м н.у.м.) и высокогорные (1900–2600 м н.у.м.), а те, что растут выше 26° северной широты и ниже 26° южной широты, считаются формами умеренного пояса.

Разнообразие фенотипов и очень разная степень адаптированности этих рас и местных сортов кукурузы весьма часто создают проблемы для размножения образцов. Образцы гермоплазмы генетически либо гетерозиготны (панмиктические популяции), либо гомозиготны (инбредные линии).

Рекомендуемые приемы и процедуры размножения гермоплазмы кукурузы разработаны на основании экспериментальных и теоретических изысканий по вопросам размера образца и системы репродукции.

Выбор условий окружающей среды и времени посева

Климатические условия

- По возможности выбирают условия окружающей среды, соответствующие месту, где был собран оригинальный образец.
- В условиях богары, 500–700 мм осадков считаются оптимальным количеством (в зависимости от типа образцов гермоплазмы и структуры почвы); при более низком уровне осадков требуется дополнительное орошение.
- Гермоплазма кукурузы умеренного пояса адаптирована к длинному световому дню (≥ 13.4 часов). Тропической кукурузе обычно требуется более короткий день для инициации цветения в средних широтах.
- Для размножения староместных сортов кукурузы, приспособленных к прохладным условиям окружающей среды, с вегетационным периодом более 10 месяцев, например, собранных на средних высотах в Андах и Центральной Америке, а также в южной Мексике, потребуется сотрудничество с национальными генбанками.
- Кукуруза способна расти в диапазоне температур от 5 до 45° C, но лучше всего она себя чувствует при температуре в пределах 25 – 35° C. Экстремально высокие температуры, особенно в сочетании с низкой влажностью, способны понизить жизнеспособность пыльцы и ухудшить завязываемость семян.

Подготовка к размножению

Когда надо проводить размножение

- Когда число жизнеспособных семян в образце панмиктической популяции в активной или базовой коллекции меньше 1500 или меньше 250 в образце инбредной линии.
- Когда проверка жизнеспособности показывает падение жизнеспособности семян ниже 85% исходной всхожести в активной коллекции (для получения дополнительной информации см.: FAO/IPGRI 1994; ISTA 2008).

Предварительная обработка

- Для обеспечения защиты всходов и развития растений в полевых условиях, рекомендуется обработать семена фунгицидами и инсектицидами.

Предосторожности

- Во избежание генетического дрейфа, инбридинга и последующей утраты аллелей у панмиктических популяций, в каждом цикле размножения рекомендуется поддерживать одинаково большую эффективную численность популяции (в зависимости от того, что меньше по объему – либо >100 початков, либо количество семян, в 4 раза превосходящее исходный образец) (Crossa 1987; Crossa et al. 1994; Wang et al. 2004).
- Для того, чтобы получить качественные семена для обмена и использования, до и после размножения рекомендуется проводить осмотр и скрининг выращиваемых на семена растений с целью выявления карантинных вредителей и болезней (Mezzalama et al. 2001).
- Особые предосторожности необходимо соблюдать в случае опасности засорения ГМО. После размножения следует проводить проверку партий семян на предмет наличия ГМО и уничтожать засоренные партии (Mezzalama et al. 2008).

Методы размножения

Размножение кукурузы методом контролируемого опыления.

Искусственное опыление

Этот метод наиболее обычен для размножения образцов гермоплазмы. Для этого используются либо парные скрещивания (plant-to-plant crossing), либо прямые и обратные скрещивания. Для размножения большого числа образцов рекомендуются реципрокные скрещивания.

- При парных скрещиваниях (в режиме двудомности) каждое растение используется либо как мужское, либо как женское. При этом для получения такого же количества початков требуется в два раза больше земли, чем при прямых и обратных скрещиваниях, а эффективная численность популяции удваивается (т.е., если предполагается собрать 100 початков, то эффективная численность популяции равна 200).
- При прямых и обратных скрещиваниях (в режиме однодомности) каждое растение используется и как мужское, и как женское.

Процедура

1. До того, как появятся пестичные нити, на початок каждого растения изолятор надевают (пакет из кальки) (Рис. 2);
2. За день до опыления на метелку надевают пакет для сбора пыльцы с мужских соцветий (Рис. 3);
3. На следующее утро следует слегка нагнуть растение и потрясти мужское соцветие, чтобы собрать пыльцу в пакет, надетый поверх метелки (Рис. 4);
4. Изолятор снимают, чтобы открыть нитевидные пестики женских цветков, и опыляют нитевидные пестики пыльцой из пакета, надетого на метелку;

5. Нитевидные пестики незамедлительно снова укрывают пакетом из кальки, а пыльцевой пакет надевают обратно на метелку и так оставляют до уборки урожая.
 - Требуется хорошая синхронность между появлением нитевидных пестиков и метелки.
 - Опыление следует проводить до того, как температура повысится до 36 С°.

Естественное или свободное опыление

- Естественное опыление (т.е. режим свободного опыления для получения семян) можно использовать в тех случаях, когда размножение осуществляют в фермерском хозяйстве на основе контракта с фермером, возделывающим местные расы кукурузы, которые специально адаптированы к условиям произрастания в фермерском хозяйстве. В этом случае следует использовать изолированные делянки на фермерских полях.
- С делянок, где проводится размножение посредством свободного опыления, собирают большой образец семян (3–5 кг) для активного и базового хранения.

Предотвращение загрязнения ГМО

- Проводя искусственное опыление, необходимо предотвратить загрязнение пыльцой ГМО, приносимой извне на делянки, где проводится размножение. Пестичные нити следует укрывать воздухонепроницаемыми пакетами из кальки, метелки – пакетами для сбора пыльцы, а затем быстро и аккуратно проводить опыление.
- Если существует опасность загрязнения, сигнальные растения (хорошо адаптированный материал, гибриды или сорта) высаживают в виде ограды для обнаружения возможного попадания ГМО извне на поля, где проводится размножение. У этих растений следует удалить метелки и они должны свободно опыляться смесью пыльцы из источников, из которых пыльца перемещается на делянки, на которых осуществляется размножение. Все зерно, собранное из рядков сигнальных растений, подлежит проверке на возможное присутствие ГМО (Mezzalama et al., 2008).

Индукция цветения

- В условиях умеренного пояса, образцы гермоплазмы тропической кукурузы, чувствительные к длине светового дня, после посева следует затенять на 8 часов в день в течение 6–8 недель, чтобы ускорить инициацию цветения, а это обеспечивает возможность опыления и получение урожая с ограниченного числа таких образцов (Марк Миллард, из личной переписки). Эту методику можно использовать для размножения в течение одного года небольшого числа образцов растений с длинным вегетационным периодом.

Расположение делянок, густота посева и расстояние между растениями

- Делянки, на которых проводят размножение, следует располагать как в эксперименте без повторностей, изолируя их от селекционных делянок и производственных полей.
- В целях упрощения ухода за полем и выполнения различных операций, по мере

возможности группируйте делянки с образцами, схожими по срокам созревания, высоте растений или типу опыления (самоопыление или переопыление сестринских растений) в отдельные блоки.

- Чередуйте растения с различной окраской зерна для более легкого обнаружения нежелательного переопыления.
- Подберите размер делянки и густоту посева в зависимости от размножаемого образца гермоплазмы. Например, чтобы получить 256 растений на делянке (60 м²) и собрать более 100 початков (в панмиктической популяции), обеспечьте для одного образца 16 пятиметровых рядков с междурядьями в 75 см. Закладывайте по два семени в лунку, чтобы после прореживания в рядке осталось 16 растений.
- Приемлемая густота посева и размер делянки для образца подбираются в зависимости от времени созревания и высоты растений.
- Для инбредных линий обеспечивайте 8–10 рядков на образец (21 растение на 1 пятиметровый рядок), чтобы вырастить 168 растений и получить достаточное количество семян. Поддерживайте чистоту линий, высевая в процессе последующих циклов размножения семена оригинальных родительских форм (с 8 – 10 початков самоопыляемых растений), а не общую массу семян, полученных в ходе предыдущего размножения. Початки, полученные в результате самоопыления, следует собирать с выровненных растений, отличающихся однородностью и типичностью початков и зерна.
- При естественном опылении, высевайте образцы на расстоянии 200–300 м друг от друга, в количестве более 200 растений на делянке каждого образца, чтобы получить 100 хорошо выполненных початков-полусибсов (при эффективной численности популяции равной 100 растениям). Собирайте початки с центральной части делянки для обеспечения представительности образца.
- Если в результате размножения не удалось получить 100 початков (или требуемое количество семян), размножение этого образца следует повторить, используя семена того же происхождения. Початки, полученные в ходе первой и второй попыток, следует объединить, чтобы получить репрезентативный образец данного цикла размножения.

Уход за посевами

Обычно кукурузу выращивают на богаре, но иногда и на орошаемых землях.

Орошение

- В засушливые периоды рекомендуется дополнительный полив.
- Если размножение проводится в условиях орошения, за две недели до и в течение двух недель после цветения следует обеспечить водный стресс, поскольку это исключительно важно для хорошего развития початков и завязываемости зерна.

Внесение удобрений

- Чтобы растения нормально росли, в почву вносят минеральные удобрения в достаточных количествах.
- Удобрения (N-P-K) вносят в рекомендуемых дозах до появления всходов, а затем в процессе культивации применяют азотные удобрения.
- Если опыты в хозяйствах проводят в тропических условиях, часто в минимальных количествах применяют удобрения N-P-K (80-40-0).

Распространенные вредители и болезни

Для определения симптомов воздействия наиболее вероятных вредителей и болезней, а также принятия необходимых мер для борьбы с ними, рекомендуется обращаться к местным фитопатологам. Для кукурузы обычными вредителями и болезнями являются следующие:

- Цикадки, совки и трипсы, *Dalbulus maidis*, *Cicadulina* spp., *Spodoptera frugiperda*, и другие насекомые наносят вред корням, листьям и стеблям в тропических районах (Ortega 1987)
- Болезни, поражающие листья, стебель и зерновки – ложная мучнистая роса, ржавчина кукурузы, гельминтоспориоз и бурая пятнистость кукурузы, серая пятнистость листьев, стеблевая гниль (возбудители *Pythium*, *Fusarium* и *Gibberella*), диплодиоз кукурузы (*Stenocarpella* (syn. *Diplodia maydis*)), антракноз (*Collectotrichum graminicola*), гниль початков (возбудители *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Gibberella* и *Stenocarpella*), кладоспориоз (возбудитель *Cephalosporium*), пузырчатая головня кукурузы (возбудитель *Ustilago maydis*), карликовая мозаика кукурузы, вирусная полосатость кукурузы, вирус MRFV, кустистая карликовость кукурузы (MBS), и спироплазма *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb et al. (Программа CIMMYT по кукурузе, 2004).

Борьба с вредителями и болезнями

За рекомендациями следует обращаться к фитопатологу.

- Своевременное применение приемлемых инсектицидов позволит свести к минимуму ущерб от насекомых-вредителей. При этом борьба с болезнями листьев и стебля, а также гнилью початков затруднительна.
- Необходимо знать, какие вредители и болезни имеются в каждом регионе, а также следует избегать природных очагов злостных вредителей и болезней.
- Стрессы вследствие избыточной влажности и засушливости усугубляют проблему.
- В течение вегетационного периода необходимы периодические осмотры полей фитопатологами и вирусологами.

Предварительная выбраковка нетипичных растений

- Предварительную выбраковку нетипичных растений на делянке, где осуществляется размножение, проводят в периоды всходов и цветения, поскольку образец семян

может содержать в качестве примеси другие генотипы, растения ранее размноженных образцов, а во время опыления могло произойти переопыление чужеродной пылью.

Другие меры

- Следует избегать засорения чужеродной пылью, включая пыльцу ГМО.
- Рекомендуется применять севооборот, принятый в системе полеводства в данной местности.

Сбор урожая

1. До сбора урожая проводят сбор данных по всем необходимым агрономическим признакам (см. Раздел «Документирование» ниже).
2. Непосредственно перед уборкой урожая записывают число полегших и количество опыленных растений.
3. К моменту уборки урожая формируется черная точка прикрепления зерновки и большинство листьев, особенно листовые обертки початка, высыхают. Опыленные початки снимают с растения и кладут либо прямо под растением, либо перед рядом для осмотра. (Рис. 5 а, б)
4. Далее каждый початок осматривают до и после обмолота, удаляют больные, засоренные и нетипичные зерновки.
5. Чтобы обеспечить репрезентативность образца, берут чистые початки с хорошим качеством зерна и записывают в полевой журнал, с какого числа початков было взято зерно для формирования образца семян.
6. Собранные початки обрабатывают инсектицидами, чтобы уберечь от насекомых-вредителей в процессе обработки зерна.

Число зерен, которое следует брать с одного опыленного початка

- Берут по 10 зерновок со 100 или по 50 с 20 материнских растений, или отбирают одинаковое число зерновок с максимально большого числа материнских растений, чтобы сохранить высокой эффективную численность популяции (N_e) (Crossa et al. 1994; Vencovsky и Crossa 1999).

Послеуборочная обработка

1. Собранные початки следует предварительно подсушить в камере, пропуская через сложенные кучками початки нагретый воздух (не более 35°C), чтобы понизить содержание влаги в зерновках до 13 – 15%. Если в момент сбора урожая зерно очень сырое, сушить кукурузу следует при температуре не выше 30°C. При отсутствии специальных сушильных помещений початки следует сушить в тени, обеспечивая хорошую циркуляцию воздуха.

2. Зерновки каждого початка вылушивают в отдельные пакеты и составляют сбалансированные образцы из зерновок со всех початков, чтобы скомпоновать репрезентативный для данного цикла размножения образец. Обычно для этого берут равное количество зерновок из каждого початка. Далее проводят холодную сушку всего объема семян всех образцов. В идеале, следует подготовить несколько пакетов, в каждый из которых кладут по две зерновки из каждого початка (для долгосрочного хранения) для последующего размножения (Crossa 1987).
3. Для вторичной сушки семена кладут в матерчатые мешочки или бумажные пакеты и помещают в холодную сушильную комнату при низкой температуре и влажности (10 – 15°C и относительной влажности 15 – 20%) как минимум на 4 недели, пока влажность семян не достигнет равновесной влажности 6 – 8%. Обычно для этого используют сушилки, сочетающие функции охлаждения и сушки. При отсутствии такого оборудования семена высушивают до 7 – 8% при помощи силикагеля или другого подходящего влагопоглотителя.
4. Для хранения в активной, базовой и дублетной коллекциях подготавливают несколько наборов сбалансированных совокупных образцов. Небольшую пробу из каждого образца направляют в фитосанитарную лабораторию для проверки на соответствие карантинным требованиям.
5. Перед закладкой на хранение следует записать данные природы зерна (массу 1000 зерен) и процент всхожести.
6. Остальные данные о размножении (см. раздел «Документирование» ниже) заносят в систему управления генбанком. Оригинальные паспортные данные проверяют на предмет соответствия характеристик семян исходным данным, чтобы заменить старые семена новыми, если в этом есть необходимость, (см. пункт 8 ниже).
7. Образцы семян сохраняют в соответствующих местах хранения согласно нормам, принятым генбанками для активных, базовых и дублетных коллекций.
8. Старые семена в активной и/или базовой коллекциях заменяют новой репродукцией для упрощения управления и экономии места. Небольшой образец оригинальных семян может потребоваться в качестве эталона.

Мониторинг подлинности образца

- Для подтверждения подлинности размноженного образца используют описательные данные об окраске и фактуре зерна.
- При сборе урожая рекомендуется в очередной раз проверить окраску и фактуру зерна, тип початка и зерна, классификацию образца по срокам созревания и принадлежности к определенной расе, используя для этого оригинальные записи в паспортной базе данных генбанка (сделанные во время интродукции образца). Для определения подлинности образца можно использовать такой признак, как тип растения, но он может меняться от одного цикла размножения к другому, особенно при разных условиях окружающей среды, в которых проводится размножение/сбор. Расу кукурузы можно определить по фенотипу растения и характеристикам початка и зерновок.
- В ходе обработки семян после лушения початков следует сравнить данную партию

семян с постоянным эталоном оригинальных семян образца. Внутрь пакетов и матерчатых мешочков с семенами вкладывают этикетки с присвоенным генбанком идентификационным номером образца и номером полевого участка, на котором образец был размножен, а также прикрепляют такие этикетки снаружи.

Документирование данных в процессе размножения

В полевой журнал репродукционного питомника рекомендуется записывать идентификационные и описательные данные, происхождение семян, число опыленных и собранных растений, а также агрономические характеристики образца и сведения об интродукции. Кроме этого, полевой журнал может содержать следующие подробности:

- Название места, где расположен участок и карта места или данные GPS
- Имя сотрудника
- Регистрационный номер поля/участка/питомника/теплицы
- Номер образца, идентификационные данные популяции
- Источник получения семян
- Даты, местоположение и номер участка, где проводилось предыдущее размножение
- Дата посева и его густота
- Расположение полей
- Данные по уходу за полем (орошение, внесение удобрений, борьба с сорняками, вредителями и болезнями и т. д.)
- Условия окружающей среды в месте расположения участка, где проводилось размножение (высота над уровнем моря, длина светового дня, температура, осадки, тип почвы и т. д.)
- Появление всходов в поле или теплице для проведения скрининга (количество всходов растений)
- Число принявшихся растений
- Число дней с момента посева до появления пестичных нитей и метелок (мужских цветков)
- Способ опыления: парные скрещивания, прямые и обратные скрещивания, свободное переопыление
- Число опыленных растений
- Дата сбора урожая
- Число убранных растений (опыленных початков или початков)
- Масса собранных початков в полевых условиях
- Процент влажности при уборке урожая
- Оценка качества образца по таким агрономическим показателям, как измеренная в полевых условиях масса, качество семян, однородность и устойчивость к полеганию
- Агро-морфологические признаки растения и початка (длина початка, диаметр початка, число рядков семян, длина зерновки, ширина зерновки, толщина зерновки, высота растения, высота прикрепления початка, число листьев выше початочного листа,

число дней до появления пестичных нитей, число дней до появления мужских цветков, степень поражения гнилью початка) регистрируются в качестве описательной информации и используются в многовариантном анализе для группировки образцов (Franco et al. 2005)

- Запись о приемке результатов регенерации или необходимости ее повторения. Решение принимается исходя из эффективной численности популяции и/или возможного несоответствия образца семян паспортным данным или эталонным образцам семян
- Фотографии початков и зерновок
- Дата закладки семян на хранение
- Исходный процент всхожести заложенных на хранение семян
- Процент влажности семян в процессе хранения
- Документ прохождения карантинной проверки, выданный фитосанитарной службой.

Список использованной и рекомендуемой для ознакомления литературы

- The CIMMYT Maize Program. 2004. Maize diseases: A guide for field identification. 4th edition. CIMMYT: Mexico, D.F.
- Crossa J. 1989. Methodologies for estimating the sample size required for genetic conservation of outbreeding crops. *Theoretical Applied Genetics* 77:153–161.
- Crossa J, Taba S, Eberhart SA, Bretting P, Vencovsky R. 1994. Practical considerations for maintaining germplasm in maize. *Theoretical Applied Genetics* 89:89–95.
- FAO/IPGRI. 1994. Genebank Standards. FAO, Rome, Italy.
- Franco J, Crossa J, Taba S, Shands H. 2005. A sampling strategy for conserving genetic diversity when forming core subsets. *Crop Science* 45:1035–1044.
- Hartkamp AD, White JW, Rodriguez Aguilar A, Banzinger M, Srinivasan G, Granados G, Crossa J. 2000. Maize production environments revisited: A GIS-based approach. CIMMYT, Mexico City, Mexico.
- ISTA. 2008. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. ISTA Secretariat, CH-Switzerland.
- Lafitte HR. 1994. Identifying production problems in tropical maize: A field guide. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Mezzalama ML, Gilchrist L, McNab A. 2001. Seed health: rules and regulations for the safe movement of germplasm. CIMMYT, Mexico D.F.
- Ortega AC. 1987. Insect pests of maize. A guide for field identification. CIMMYT, Mexico D.F.
- Pardey PG, Koo B, Van Dusen E, Skovemand B, Taba S, Wright BD. 2004. CIMMYT genebank in *Saving Seeds: The economics of conserving crop genetic resources ex-situ in the future harvest centers of the CGIAR*, pp. 21–47. CABI Publishing, UK.

Salhuana W. 1995. Conservation, evaluation and use of maize genetic resources. In: Engels JMM, Rao RR, editors. Regeneration of Seed Crops and Their Wild Relatives. ICRISAT, India.

Wang J, Crossa J, van Ginkel M, Taba S. 2004. Statistical genetics and simulation models in genetic resource conservation and regeneration. *Crop Science* 44:2246–2253.

Благодарность

Д-ру Хозе Кросса (CIMMYT, Мексика), д-ру Мэйджору Гудманну (США) и м-ру Захари К. Мутамиа (Национальный генбанк Кении) за экспертную оценку этого руководства.

Оформление ссылки

Taba S. and Twumasi-Afriyie S. 2008. Руководство по размножению. Кукуруза. В: Dulloo M.E., Thormann I., Jorge M.A. and Hanson J., editors. Crop specific regeneration guidelines [CD-ROM]. CGIAR System-wide Genetic Resource Programme, Rome, Italy. 13 pp.



1- Кукурузное поле в Сан Хосе де Минас
Suketoshi Taba

2- Зачаточные початки кукурузы с надетыми на них изоляторами из кальки

Suketoshi Taba

3- пакеты, надетые для сбора пыльцы

Suketoshi Taba

4- Сбор пыльцы посредством потряхивания пакетов для пыльцы

Suketoshi Taba

5a, 5b

Собранные початки перед полевым осмотром

Suketoshi Taba

