



# Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 633.15:631.52  
© 2013

*В.Ю. Черчель,*  
кандидат сільсько-  
господарських наук

*Б.В. Дзюбецький,*  
академік НААН

*В.В. Борисова*

*Т.М. Сатарова,*

доктор  
біологічних наук

ДУ Інститут сільського  
господарства степової  
зони НААН

## ОЦІНКА РІЗНИХ ТИПІВ ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ ЗА ГЕНЕТИЧНИМИ ДИСТАНЦІЯМИ ТА СТУПЕНЕМ ГЕТЕРОЗИСУ

*Для різних типів гібридів кукурудзи проведено порівняння генетичних дистанцій, визначених за одонуклеотидним поліморфізмом ДНК, між батьківськими лініями та рівнем гетерозису за врожайністю зерна. Показано, що сестринські гібриди, в родоводі батьківських ліній яких є значна частка генетичного матеріалу різних зародкових плазм, за генетичними дистанціями наближаються до простих гібридів. Показники гетерозису гібридів за врожайністю зерна збільшуються за насичення генотипів їх батьківських форм матеріалом з широкою генетичною основою.*

**Ключові слова:** гібриди кукурудзи, генетичні дистанції, гетерозис, врожайність зерна.

Сучасний етап розвитку селекції основних сільськогосподарських культур потребує глибокого аналізу генетичної структури вихідного матеріалу та цілеспрямованого поєднання позитивних ефектів і груп генів у генотипі майбутнього сорту. У світовій селекційній практиці для ідентифікації генофонду рослин широко використовують молекулярно-генетичні методи аналізу організації, ступеня і характеру мінливості геномів [4]. Застосування молекулярно-генетичних методів є необхідною умовою для систематизації ліній і гібридів щодо основних типів зародкових плазм, що особливо важливо за гетерозисної селекції кукурудзи. З огляду на це становить інтерес метод поліморфізму одиничних нуклеотидів (single nucleotide polymorphisms, або SNPs) — сучасний інструментальний метод аналізу ДНК, який дає змогу за використання специфічних маркерів виявляти мінімальні зміни в нуклеотидних послідовностях [9] і є перспективним для встановлення спорідненості селекційного матеріалу, його кластеризації та цільового підбору пар для створення високогетерозисних гібридів [6, 7].

Щодо кукурудзи, то поки ще не повністю досліджено особливості використання SNP-аналізу в оцінці рівня гетерозису гібридів різних типів. Відомо, що ефект гетерозису найповніше реалізується в простих гібридах за схрещування неспоріднених батьківських форм [1]. Інший тип гібридів кукурудзи, так званий сестринський, створюють на основі споріднених ліній та використовують як батьківську форму в різних типах гібридів [2]. Для прогнозування рівня гетерозису у названих вище гібридів можна використати оцінку попарних генетичних дистанцій між лініями, визначених за SNP-маркерами.

**Мета досліджень** — оцінка сестринських і простих гібридів кукурудзи за генетичними дистанціями їх батьківських компонентів, а також за рівнем гетерозису щодо врожайності зерна.

**Матеріали і методи.** Матеріалом для дослідження були 2-лінійні гібриди кукурудзи, до складу ввійшли 2 групи ліній зародкової плазми Айодент (ФАО 150–200 та 200–300). Вивчали 2 типи гібридів: сестринські (отримані від схрещування споріднених батьківських ліній) та

**1. Варіювання попарних генетичних дистанцій (GD), визначених за SNP-аналізом, у гібридів кукурудзи на основі плазми Айодент**

Показник	Айодент	Айодент змішана
<i>Сестринські гібриди</i>		
n гібридів	19	26
Середнє	0,19±0,03	0,29±0,03
Lim	0,01–0,28	0,15–0,43
C <sub>v</sub> , %	37,4±12,7	28,43±8,3
<i>Прості гібриди</i>		
n гібридів	20	23
Середнє	0,43±0,01	0,43±0,02
Lim	0,38–0,45	0,34–0,50
C <sub>v</sub> , %	4,3±1,4	12,4±3,7

прості (створені на основі неспоріднених батьківських ліній).

Сестринські гібриди було поділено на 2 групи: 1-ша складалась з ліній, які ведуть свій родовід виключно від зародкової плазми Айодент; 2-га — отримана від схрещування ліній, які в своєму геномі мали плазму Айодент і генетичний матеріал ліній B73, DK247, PLS61, синтетика SSS і кременистої європейської кукурудзи, що підвищувало їх адаптованість та продуктивність.

Прості гібриди також було поділено на 2 групи: I — зразки, в яких одна з батьківських ліній за родоводом належала виключно до типу зародкової плазми Айодент; друга — до будь-якого іншого типу зародкової плазми; II — гібридні комбінації, в яких одна чи обидві батьківські форми — це лінії з певною часткою в родоводі плазми Айодент і генетичний матеріал інших типів зародкових плазм.

Усі групи гібридів аналізували за генетичними дистанціями між їх батьківськими лініями, визначеними за результатами аналізу одонуклеотидного поліморфізму з використанням 384 біалельних SNP-маркерів панелі BDI-III, проведеного на базі фірми BioDiagnostics Inc. (США) за методикою [8, 10]. За кожним з маркерів для окремої лінії визначено тип дезоксирибонуклеотиду, який міститься в маркерному локусі, тобто його алельний стан. Попарні генетичні дистанції (GD) визначено як співвідношення кількості маркерів, алельний стан яких відмінний між двома лініями, і загальної кількості проаналізованих маркерів та наведені в частках одиниці.

Усі досліджувані гібриди та батьківські ком-

поненти вивчали також у контрольному розсаднику на базі Дослідного господарства «Дніпро» (Дніпропетровська обл.) упродовж 2010–2012 рр. За погодними умовами роки досліджень характеризувались значною контрастністю. У 2010 р. на початку вегетації склалися дуже сприятливі умови для розвитку кукурудзи, які були нівельовані у 2-й половині вегетації інтенсивною посухою та екстремальними температурами повітря. Середня врожайність зерна за дослідом у 2010 р. становила 6,06±0,03 т/га. Найсприятливіші умови вегетації кукурудзи були у 2011 р., коли рівномірний розподіл опадів упродовж вегетації сприяв достатньо повній реалізації її генетичного потенціалу та забезпечив урожайність гібридів кукурудзи на рівні 9,54±0,03 т/га. Екстремально стресовим був 2012 р., що зумовило надзвичайно низьку середню врожайність гібридів кукурудзи в досліді — 2,26±0,02 т/га. Враховуючи важливість реалізації генетичного потенціалу врожайності зерна гібридів і їх батьківських компонентів для розрахунку індексів гетерозису та визначення рівня спорідненості дослідних зразків, до аналізу взаємозв'язків генетичних дистанцій та гетерозису гібридів було залучено дані лише 2011 р., а матеріали, отримані за 3-річними дослідженнями, використано для аналізу адаптивної здатності зразків.

Для досліджених гібридів за результатами польових випробувань визначено показники істинного гетерозису (відсоткове співвідношення врожайності гібрида і її значення у кращої батьківської лінії) та гіпотетичного гетерозису (відсоток перевищення врожайності гібридів над середнім її значенням у батьківських форм). Для простих гібридів визначали також конкурсний гетерозис як відсоткове співвідношення врожайності досліджуваного гібрида і середньої врожайності гібридів-стандартів для відповідної групи ФАО. Дані в таблицях наведено для середніх значень ознак у вигляді  $\bar{X} \pm m_{0,05}$ , а для коефіцієнта варіації —  $V \pm m_{cv,0,05}$  (%) за [3], їхню достовірність проаналізовано на рівні значущості 0,05.

**Результати та обговорення.** Проаналізовано варіювання попарних генетичних дистанцій для сестринських і простих гібридів кукурудзи на основі плазми Айодент (табл. 1).

Генетичні дистанції між кожними двома лініями сестринських гібридів перебували у діапазоні 0,01–0,28 для групи класичної плазми Айодент, але розширилися до 0,15–0,43 у разі включення до плазми Айодент неспорідненого

## 2. Характеристика сестринських гібридів групи Айодент змішана за походженням батьківських ліній

Гібрид	Генетична дистанція між батьківськими лініями	Батьківські лінії гібрида	Походження
ДК257М×ДК742	0,38	ДК257М	Айодент
		ДК742	Айодент, В73, PLS61
ДК254×МС500	0,40	ДК254	ДК247/Айодент
		МС500	SSS/Айодент
ДК744М×ДК742	0,42	ДК744М	Айодент
		ДК742	Айодент, В73, PLS61
ДК233×МС500	0,43	ДК233	SSS/Айодент
		МС500	SSS/Айодент

генетичного матеріалу. Середні значення попарних генетичних дистанцій між батьківськими формами сестринських гібридів збільшувалися за розширення генетичної бази від 0,19 до 0,29, але не виходили за характерну для них межу — 0,30. Коефіцієнти варіації для двох груп сестринських гібридів достовірно не розрізнялися. Прості гібриди характеризувалися значно більшим значенням генетичних дистанцій порівняно із сестринськими, який становив 0,43, і може бути використаний як показник спорідненості ліній та свідчити про їх гетерозисний потенціал у гібридах. Максимальний показник генетичних дистанцій у групі сестринських гібридів Айодент змішана близький до мінімальних показників цього параметра в обох групах простих гібридів. Високими показниками попарних генетичних дистанцій вирізнялися сестринські гібриди з групи Айодент змішана: ДК257М×ДК742, ДК254×МС500, ДК744М×ДК742 та ДК233×МС500, визначено походження їхніх батьківських форм (табл. 2).

Як свідчать наведені дані, сестринські гібриди зі значною різницею батьківських ліній за частотою однонуклеотидних замін у маркерних локусах ДНК, як правило, мають у родоводі ліній значну частку інших зародкових плазм:

Рейд (SSS, В73), PLS61 і кременистої лінії ДК247.

Середні значення генетичних дистанцій простих гібридів між групами Айодент та Айодент змішана істотно не відрізнялися, хоча за лімітами різниця між ними помітна. Так, максимальна генетична дистанція для групи простих гібридів Айодент змішана перевищує аналогічний показник у простих гібридів групи Айодент і досягає 0,50 для гібрида ДК742М×ДК367, у родоводі материнської форми якого крім плазми Айодент є генетичний матеріал ліній В73 та PLS61, а в родоводі батьківської форми — генні комплекси ліній F2 (плазма Lacaune), Oh43 (Ланкастер) та В73 (Рейд). Про більшу варіабельність простих гібридів групи Айодент змішана порівняно з групою Айодент свідчить і значення коефіцієнта варіації.

Аналіз рівня гетерозису за врожайністю двох проаналізованих груп сестринських гібридів плазми Айодент (табл. 3) свідчить, що істинний і гіпотетичний гетерозиси мають тенденцію до зростання за розширення потенціалу плазми Айодент через віддалений у генетичному відношенні матеріал. Водночас істотно зростають, насамперед, мінімальні значення визначених показників гетерозису.

## 3. Гетерозис за врожайністю у сестринських гібридів на основі плазми Айодент, %

Показник	Гетерозис			
	істинний		гіпотетичний	
	Айодент	Айодент змішана	Айодент	Айодент змішана
N	19	26	19	26
Середнє	22,2±14,3	41,5±10,5	41,9±15,7	69,5±13,1
Lim	-24,7-99,2	7,7-110,6	-15,4-84,6	16,1-116,2
C <sub>v</sub> , %	134,1±45,7	62,3±18,1	77,7±26,5	46,5±13,5

#### 4. Гетерозис за врожайністю у простих гібридів з включенням плазми Айодент, %

Показник	Гетерозис					
	істинний		гіпотетичний		конкурсний	
	Айодент	Айодент змішана	Айодент	Айодент змішана	Айодент	Айодент змішана
n	27	42	27	42	27	42
Середнє	84,1±28,1	65,0±8,1	122,6±33,2	92,4±9,5	-4,8±3,2	-7,5±2,6
Lim	12,7–350,8	12,8–158,3	37,9–416,8	50,5–183,9	-21,0–11,3	-24,5–10,4
C <sub>v</sub> , %	84,5±23,0	39,9±8,7	68,5±18,6	33,1±7,2	170,6±46,4	110,7±24,2

Визначено 3 типи гетерозису для простих гібридів, які включали плазму Айодент (табл. 4).

Прості гібриди мали значно істотніший гетерозисний ефект за врожайністю порівняно з відповідними групами сестринських гібридів на основі плазми Айодент за показниками істинного та гіпотетичного гетерозису. Особливо помітним є збільшення гетерозисного потенціалу під час порівняння простих і сестринських гібридів групи Айодент. Абсолютні значення істинного та гіпотетичного гетерозису у простих гібридів групи мали тенденцію до зростання і порівняно з простими гібридами групи Айодент змішана. Ці закономірності особливо наглядно виявляються під час аналізу мінімальних і максимальних оцінок типів гетерозису. Проте оцінки конкурсного гетерозису свідчать про негативні значення цього показника у значної кількості простих гібридів у групі Айодент (74%) і Айодент змішана (86%). Гібриди з позитивним конкурсним гетерозисом були виділені в обох групах простих гібридів, але належали виключно до групи ФАО 150–200. Визначено характеристику простих гібридів, які мали позитивні значення конкурсного гетерозису більші за 10% (табл. 5).

Гібриди з підвищеним конкурсним гетерозисом мали в своєму родоводі частку тієї чи іншої зародкової плазми лише на рівні 50% і нижче. Їх батьківські лінії є досить віддаленими у генетичному відношенні, про що свідчать генетичні дистанції більші за 0,4.

У нашому дослідженні достовірний корелятивний зв'язок між рівнями попарних генетичних дистанцій та всіх видів гетерозису не виявлено. Пояснити складність прояву такого зв'язку можна дуже значним варіюванням врожайності батьківських ліній та гібридів, про що свідчать показники коефіцієнтів варіації (див. табл. 3 і 4). Лише для простих гібридів групи Айодент ФАО 200–300 було встановлено, що у разі зростання генетичної дистанції між батьківськими лініями конкурсний гетерозис достовірно збільшується ( $r=0,85$ ).

Слід зауважити, що попарні генетичні дистанції між спорідненими лініями плазми Айодент містяться в діапазоні до 0,30, тоді як між типовими представниками різних зародкових плазм (Айодент, Ланкастер, Рейд, Європейський флінт та ін.) попарні генетичні дистанції за результатами проведеного нами SNP-аналізу сягають 0,39–0,67. Виявлено тенденцію до

#### 5. Прості гібриди кукурудзи з підвищеним конкурсним гетерозисом

Гібрид	Конкурсний гетерозис, %	Генетична дистанція між батьківськими лініями	Врожайність, т/га	Походження
<i>Айодент</i>				
ДК744М×ДК232МВ	11,3	0,42	9,72	♀ Айодент ♂ SSS
<i>Айодент змішана</i>				
ДК247М×МС381СВ	10,4	0,47	9,65	♀ ДК247 ♂ SSS/Айодент
<i>Стандарт</i>				
ПР39Г12	0	–	8,74	Гібрид фірми Піонер

зростання рівня істинного та гіпотетичного гетерозису за розширення генетичної основи сестринських гібридів плазми Айодент через включення неспорідненого матеріалу. Рівень гетерозису у простих гібридів порівняно з сестринськими підвищується завдяки збільшенню частки різних зародкових плазм у генотипі гібрида.

Слід зазначити, що селекційний прогрес у підвищенні врожайності інбредних ліній виявляє швидші темпи, ніж зростання рівня гетерозису у гібридів. Тому нині індекси істинного чи гіпотетичного гетерозису не відображають реального стану спорідненості селекційних зразків, а високий рівень врожайності конкурсних гібридів досягається переважно завдяки нако-

пиченню адитивних ефектів генів, а не випадкових ефектів взаємодії специфічних гетерозигот [5].

Тенденція до зменшення рівня гіпотетичного гетерозису, яка супроводжує селекційний прогрес гетерозисних культур, потребує переосмислення класифікації гібридів за спорідненістю та потенціалом врожайності, оскільки деякі комбінації з низьким гетерозисом можуть формувати високу врожайність зерна. Тому під час визначення типу гібрида (сестринський чи простий) більшого значення набуває не продуктивність батьківських форм, а генетична спорідненість, визначена за точно зафіксованим родоводом або за алельним станом маркерних локусів ДНК.

## Висновки

*Гібриди кукурудзи, батьківські форми яких мають спільне походження (сестринські) в межах плазми Айодент, характеризуються значеннями генетичних дистанцій, визначених за аналізом одонуклеотидного поліморфізму ДНК (на рівні 0,01–0,28), тоді як у простих гібридів з включенням генетичного матеріалу плазми Айодент цей показник зростає до*

*0,34–0,50. Сестринські гібриди, в родоводі батьківських ліній яких є значна частка генетичного матеріалу різних зародкових плазм, за генетичними дистанціями наближаються до простих гібридів. Показники гетерозису гібридів за врожайністю зерна збільшуються за насичення генотипів їх батьківських форм матеріалом з широкою генетичною основою.*

## Бібліографія

1. Дзюбецький Б.В. Сучасна зародкова плазма в селекції кукурудзи в Інституті зернового господарства УААН/Б.В. Дзюбецький, В.Ю. Черчель//Селекція і насінництво. — 2002. — Вип. 86. — С. 11–19.
2. Кравченко В.М. Вплив рівня гетерозису сестринських схрещувань на основні господарсько цінні ознаки модифікованих гібридів кукурудзи: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. с.-г. наук: 06. 01. 05/Кравченко В.М. — Дніпропетровськ, 2007. — 19 с.
3. Лакин Г.Ф. Биометрия/Г.Ф. Лакин. — М.: Высш. шк., 1990. — 352 с.
4. Сиволап Ю. М. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений/Ю.М. Сиволап, Н.Э. Кожухова, Р.Н. Календарь. — Одесса: Астропринт, 2011. — 336 с.
5. Черчель В.Ю. Врожайність зерна та гіпотетичний гетерозис сестринських гібридів кукурудзи плазми Рейд/В.Ю. Черчель, Н.А. Боденко//Бюл. Ін-ту

- зернового господарства УААН. — 2010. — № 39. — С. 12–15.
6. Lu Y. Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome-wide single nucleotide polymorphisms/Y. Lu et al.//Theor. Appl. Genet. — 2009. — V. 120. — P. 93–115.
7. Mammadov J. SNP markers and their impact on plant breeding/J. Mammadov et al.//Int. J. Plant Genomics. — 2012. — doi: 10.1155/2012/728398.
8. Syvänen A.-Ch. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms/A.-Ch. Syvänen//Nature reviews/Genetics. — 2001. — V. 2. — P. 930–942.
9. Vignal A. A review SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics/A. Vignal et al.//Genetics, selection, evolution. — 2002. — V. 34, № 3. — P. 275–305.
10. www.biodiagnostics.net

Надійшла 27.05.2013.