

АЛЕЛЬНИЙ СКЛАД ПОЛІМОРФНИХ ЛОКУСІВ ЛІНІЙ І ГІБРИДІВ ТА ЙОГО ЗВ'ЯЗОК З РІВНЕМ ГЕТЕРОЗИСУ У КУКУРУДЗИ

Здійснено SSR-аналіз поліморфізму вихідних ліній кукурудзи GK26 і Mo17 та ліній-тестерів Од221МВ, Од308МВ і Од329. Генотиповано рекомбінантні інбредні лінії (РІЛ) з популяції (GK26 × Mo17) F₂, F₆ за десятьма поліморфними локусами. Визначено аельний склад та частоту алелів мікросателітних локусів вихідних ліній, ліній-тестерів, кращих високогетерозисних гібридів та побудовано їхні молекулярно-генетичні формули. Досліджено аельний склад мікросателітів кращих за параметрами комбінаційної здатності РІЛ високопродуктивних гібридів.

Ключові слова: лінії та гібриди кукурудзи, SSR-аналіз, генетичний поліморфізм, аельний склад, частота алелів, комбінаційна здатність, гетерозис.

Вступ. Відомо, що добір на основі використання молекулярних маркерів – MAS (marker-assisted selection) [1–3] має переваги над традиційними методами селекції за рахунок використання тісних асоціацій між генетичними маркерами і локусами важливих агрономічних ознак [4–7]. При традиційній селекції добір проводиться за фенотипом і може бути ефективним при середніх та високих значеннях коефіцієнта успадкованості. На первинних етапах селекції MAS більш ефективна, ніж фенотиповий добір за умови низьких значень коефіцієнта успадкованості ($h^2 = 0,1-0,2$) [8, 9]. Отже, MAS робить ефективним ранній добір, особливо в синтетичних популяціях, і спрощує селекцію за кількісними ознаками, для яких важко знайти морфологічні маркери [10, 11].

Перша в Україні MAS-технологія розроблена на кукурудзі та запатентована колективом учених Південного біотехнологічного центру в рослинництві і Селекційно-генетичного інституту – НЦНС [12]. На основі регресійної моделі зв'язку між маркерними локусами і цінними QTL's показано можливість ефективного добору в популяціях РІЛ ($\Delta G = 10-16,2\%$), а також

обґрунтовано вірогідність прогнозу щодо рівня розвитку господарських ознак в наступних генераціях популяції [13, 14].

Одним з напрямів застосування MAS-технологій в гетерозисній селекції є дослідження аельного складу поліморфних локусів ліній і гібридів з метою виявлення його зв'язку з рівнем гетерозису, зокрема у кукурудзі. Цей напрям потребує фундаментальних досліджень і використання сегрегуючих популяцій F₂ або популяцій рекомбінантних інбредних ліній пізніх генерацій. При дослідженні гетерозису у кукурудзі методами молекулярно-маркерного аналізу важливим аспектом є також виявлення можливих зв'язків між основними параметрами комбінаційної здатності ліній і аельним складом поліморфних локусів гібридів та їх батьківських форм.

Виходячи з цього, метою дослідження стало визначення аельного складу маркерних SSR-локусів у кращих за продуктивністю гібридів та їх батьківських форм і побудова їхніх молекулярно-генетичних формул. Крім того, значний інтерес становило дослідження характеру зв'язку між певними комбінаціями алелів у поліморфних локусах батьківських форм кращих гібридів і показниками цих гібридів за рівнем гетерозису, а також комбінаційної здатності їх батьківських ліній.

Матеріал та методи. Вихідний матеріал – лінії кукурудзи GK26, Mo17, сегрегуюча популяція (GK26 × Mo17) F₂ і лінії-тестери (використані як запилювачі на ділянках гібридизації з материнськими РІЛ) Од308МВ, Од221МВ і Од329 надано лабораторією генетико-біотехнологічних методів селекції кукурудзи СГІ – НЦНС. Інбредні лінії суттєво різняться за основними морфо-біологічними ознаками і належать до різних гетерозисних груп – Iodent, Lancaster, Mindszenpuszta відповідно, а лінії Од221МВ і Од329 відносять до окремих гетерозисних груп, які утворюють з лініями інших груп високогетерозисні гібриди.

У фазі 7–8 листочків на кожній ділянці гібридизації відбирали зразки листя з трьох рослин (субліній) кожної родини F_4 , F_6 для виділення ДНК. В популяції F_4 добрано 50 РІЛ \times 3 рослини \times 3 тестера = 450 зразків, в популяції F_6 – 100 РІЛ \times 3 рослини \times 3 тестера = 900 зразків. За різних технічних причин кількість дослідних субліній РІЛ скоротилась до 239 у родині F_4 і до 477 у родині F_6 .

Сортовипробування отриманих гібридів здійснювали в двох екологічних зонах – дослідному господарстві (ДГ) «Дачна» (Південний степ) та ДГ «Новоселівське» (Лісостеп) впродовж 2005–2006 рр. Гібриди з відповідними стандартами висівали рендомізованими блоками у трикратній повторності. Оцінювали врожайність зерна в розрахунку на 14 % вологості, а також показники загальної та специфічної комбінаційної здатності (ЗКЗ, СКЗ). Рівень конкурсного гетерозису визначали за формулою Peter and Frey у викладі Зенишевої [15]

$$H_k = \frac{F_1 - st}{st} \cdot 100 \%,$$

де F_1 – урожайність гібрида; st – урожайність стандартного гібрида.

Загальну та специфічну комбінаційну здатність аналізували за універсальною програмою для нерегулярних схрещувань [16]. Статистич-

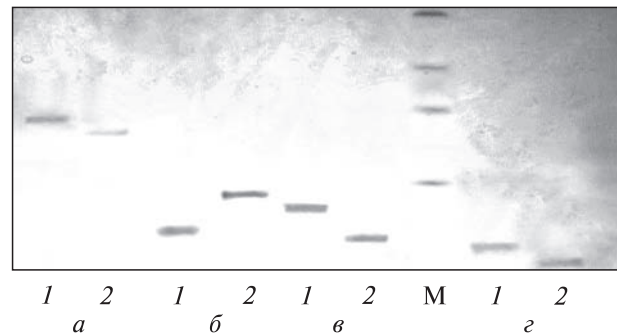


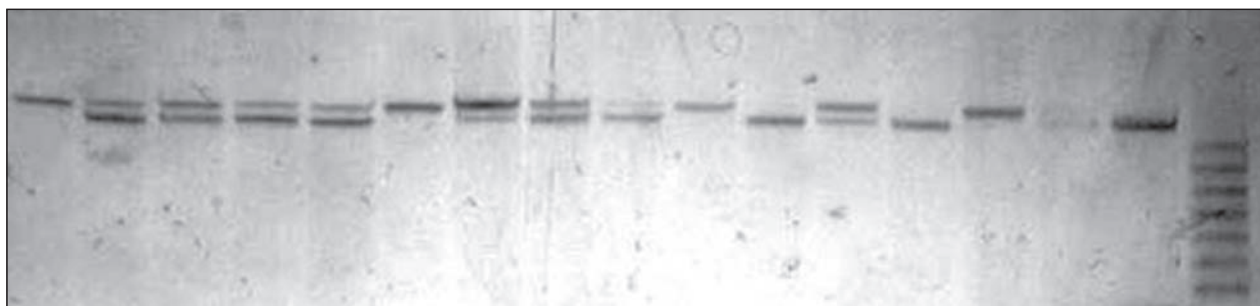
Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації SSR-локусів: *a* – nc030, *б* – phi061, *в* – phi064, *г* – phi044; 1 – ГК26, 2 – Мо17, М – маркер молекулярної маси (pBR322/mspI)

ну обробку даних проводили згідно із загальнопоширеними методами [17].

Для детекції поліморфізму ДНК використовували різновид полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з SSR-праймерами [18]. Умови ампліфікації ДНК оптимізовані для приладу MJ Research (PTC-200). ДНК виділяли з листя кукурудзи із застосуванням цетавлону [19]. Оцінку ампліконів проводили у 4%-ному агарозному та 10%-ному поліакриламідному (ПАА) гелях [20] на обладнанні Hoefer SE600 (США) та Helicon VE-20 (РФ). Фотографували агарозні гелі в ультрафіолетовому промінні з червоним

Таблиця 1. Характеристика поліморфних SSR-локусів вихідних ліній ГК26 і Мо17

SSR-локус	Ген та продукт гена	Хромосомна локалізація	Молекулярна маса поліморфних продуктів, п.н.	
			ГК26	Мо17
phi064	<i>csu89</i> , гомолог мієліноподібного лужного білка	1,11	86–86	78–78
phi083	<i>prp2</i> , патогенез-зв'язаний білок	2,04	126–126	130–130
nc030	<i>tri4</i> , тріозофосфат-ізомераза 4	3,04	112–112	108–108
phi031	<i>pl1</i> , пурпурова рослина, транскрипційний активатор для генів флавоноїдів	6,03	187–187	191–191
phi112	<i>o2</i> , ендосперм непрозорий, регулюючий білок	7,01	137–137	161–161
phi057	<i>o2</i> , ендосперм непрозорий, регулюючий білок	7,01	154–154	158–158
phi080	<i>gst1</i> , глутатіон S-трансфераза 1	8,08	162–162	158–158
phi044	<i>sh1</i> , сахарозсинтетаза	9,01	76–76	72–72
phi061	<i>wx1</i> , ендосперм воскоподібний	9,03	80–80	88–88
phi084	<i>nac1</i> , NaCl стрес-білок 1	10,04	159–159	155–155



4300 4301 4302 4303 4304 4305 4306 4307 4308 4310 4311 4312 4313 4314 4315 4316 М

Рис. 2. Електрофореграма генотипування РІЛ з популяції (ГК26 × Мо17)_{F4} за SSR-локусом phi084; М – маркер молекулярної маси (набір фрагментів у діапазоні 128–152 п.н. з кроком у 4 нуклеотиди)

світлофільтром на плівку «Мікрат-300». Забарвлювали ПАА гелі азотнокислим сріблом.

Документували отримані ПАА електрофореграми за допомогою відеосистеми VDS («Pharmacia Biotech», США). Для підвищення точнос-

ті молекулярну масу поліморфних фрагментів ДНК обраховували за допомогою комп'ютерної програми «Image Master 1D Elite» згідно з маркером молекулярної маси pUC19/MspI, pBR322/MspI та λ/PstI («Fermentas», Литва).

Таблиця 2. Характеристика ліній-тестерів Од221МВ, Од308МВ і Од329 за поліморфними SSR-локусами

SSR-локус	Хромосомна локалізація	Молекулярна маса поліморфних продуктів, п.н.			SSR-локус	Хромосомна локалізація	Молекулярна маса поліморфних продуктів, п.н.		
		Од221МВ	Од308МВ	Од329			Од221МВ	Од308МВ	Од329
phi056	1,01	93–93	90–90	99–99	phi080	8,08	160–160	164–164	160–160
phi113	5,02	146–146	114–114	118–118	phi014	8,04	165–165	165–165	168–168
phi031	6,03	215–215	215–215	187–187	phi115	8,03	94–94	94–94	102–102
phi112	7,01	122–122	132–132	140–140	phi044	9,01	84–84	76–76	80–80
phi057	7,01	154–154	151–151	158–158	phi061	9,03	80–80	80–80	88–88
phi091	7,03	140–140	150–150	145–145	phi042	9,04	174–174	186–186	186–186
phi114	7,02	170–170	178–178	178–178	phi041	10,00	144–144	140–140	140–140

Таблиця 3. Генетичні формули вихідних ліній ГК26 і Мо17 та ліній-тестерів Од221МВ, Од308МВ, Од329

Лінія	Генетична формула
Г К 2 6	phi044 ₇₆ nc030 ₁₁₂ phi084 ₁₅₉ phi06 ₁₈₈ phi057 ₁₅₄ phi031 ₁₈₇ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₃₇ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆ phi056 ₉₀ phi113 ₁₁₄ phi091 ₁₄₅ phi114 ₁₇₀
М о 1 7	phi044 ₇₂ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₅₅ phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₅₈ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₃₀ phi064 ₇₈ phi056 ₉₀ phi113 ₁₁₄ phi091 ₁₄₅ phi114 ₁₇₀
Од221	phi044 ₈₄ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₄ phi031 ₁₈₇ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₃₇ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆ phi056 ₉₃ phi113 ₁₄₆ phi091 ₁₄₀ phi114 ₁₇₀
Од308	phi044 ₇₆ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi06 ₁₈₀ phi057 ₁₅₀ phi031 ₁₈₇ phi080 ₁₆₆ phi112 ₁₅₃ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆ phi056 ₉₀ phi113 ₁₁₄ phi091 ₁₅₀ phi114 ₁₇₈
Од329	phi044 ₈₀ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi061 ₈₈ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆ phi056 ₉₉ phi113 ₁₁₈ phi091 ₁₄₅ phi114 ₁₇₈

Результати досліджень та обговорення. За використанням 47 пар SSR-праймерів проведено порівняльний аналіз геномної ДНК вихідних елітних ліній ГК26 та Мо17. За допомогою їх схрещування отримано сегрегуючу популяцію F₂, а в результаті подальшого самозапилення – популяції РІЛ (ГК26 × Мо17) F₄ та F₆. Відібрано 10 пар праймерів (nc030, phi061, phi064, phi083, phi031, phi044, phi057, phi084, phi080, phi112), що детектували поліморфізм у 8 хромосомах з десяти у вихідних ліній – ГК26 і Мо17 (табл. 1 та рис. 1).

Аналіз SSR-ПЛР ліній-тестерів Од221МВ, Од308МВ і Од329 з використанням 47 пар SSR-праймерів дозволив виділити 14 з них (phi061,

phi091, phi113, phi115, phi014, phi031, phi041, phi042, phi044, phi056, phi114, phi057, phi080, phi112), які детектували поліморфний стан локусів (табл. 2).

За поліморфними локусами, що були детектовані у батьківських ліній, проведено генотипування в популяції РІЛ (ГК26 × Мо17) F₄ та F₆ (рис. 2).

Генотипування ДНК субліній РІЛ з популяції F₄, F₆ за десятьма SSR-локусами із визначеною молекулярною масою дозволило простежити розщеплення за поліморфними локусами та визначити алельний стан послідовності ДНК кожного з десяти локусів.

Таблиця 4. Частота генотипів, алелів та розмір маркерних алелів РІЛ з популяцій F₄, F₆

Генотипові класи	Маркерні локуси														
	phi044			nc030			phi084			phi061			phi057		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
РІЛ F ₄ (239 генотипів)															
Aa	72	20	–	108	19	–	155	39	–	80	15	–	154	10	–
	76			112			159			88			158		
AA	76	43	0,53	112	52	0,62	159	26	0,45	88	34	0,41	158	16	0,21
aa	72	37	0,47	108	29	0,38	155	35	0,54	80	51	0,59	154	74	0,79
РІЛ F ₆ (477 генотипів)															
Aa	72	12	–	108	12	–	155	15	–	80	9	–	154	8	–
	76			112			159			88			158		
AA	76	56	0,62	112	48	0,54	159	39	0,47	88	40	0,45	158	24	0,28
aa	72	32	0,38	108	40	0,46	155	49	0,53	80	51	0,55	154	68	0,72
Генотипові класи	phi031			phi080			phi112			phi083			phi064		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
	РІЛ F ₄ (239 генотипів)														
Aa	187	19	–	158	27	–	137	5	–	126	17	–	78	26	–
	191			162			161			130			86		
AA	191	48	0,58	162	49	0,63	161	42	0,44	130	49	0,58	86	30	0,43
aa	187	33	0,42	158	24	0,37	137	53	0,56	126	34	0,42	78	44	0,57
РІЛ F ₆ (477 генотипів)															
Aa	87	15	–	158	13	–	137	5	–	126	9	–	78	8	–
	191			162			161			130			86		
AA	191	57	0,65	162	65	0,72	161	53	0,56	130	40	0,45	86	43	0,47
aa	187	28	0,35	158	22	0,28	137	42	0,44	126	51	0,55	78	49	0,53

Примітка. Гетерозиготність у популяції F₄ H_{оч} = 0,20, у популяції F₆ H_{оч} = 0,11; 1 – розмір алелів, п.н.; 2 – частота генотипів, %; 3 – частота алелів А, а.

Таблиця 5. Частота та розмір (п.н.) маркерних алелів материнських форм (РІЛ F₄, F₆) високогетерозисних гібридів

Гібрид (РІЛ F ₄ , F ₆ × × тестер)	Рівень гете- рози- су, %		phi044		nc033		phi084		phi061		phi057		phi031		phi080		phi112		phi083		phi064	
	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота	Розмір	Частота
F ₄ 4315 × Од308	72	0,47	108	0,38	159	0,45	88	0,41	158	0,21	191	0,51	162	0,63	137	0,56	130	0,58	78	0,57	86	0,43
			112	0,62																		
F ₆ 4372 × Од308	76	0,62	108	0,46	155	0,53	88	0,45	158	0,28	191	0,65	158	0,28	137	0,44	126	0,55	86	0,47	130	0,45
			159	0,47									162	0,72								
F ₆ 5931 × Од329	76	0,62	108	0,46	155	0,53	80	0,55	158	0,28	191	0,65	162	0,72	161	0,56	126	0,55	78	0,53		
			76	0,62	108	0,46	159	0,47	80	0,55	158	0,28	187	0,35	162	0,72	137	0,44	130	0,45	78	0,53
F ₆ 5947 × Од329	72	0,38	112	0,54	159	0,47	88	0,45	158	0,28	191	0,65	162	0,72	161	0,56	130	0,45	86	0,47		
F ₆ 4374 × Од308	76	0,62	108	0,46	159	0,47	80	0,55	154	0,72	191	0,65	162	0,72	161	0,56	126	0,55	78	0,53		
			112	0,54			88	0,45	158	0,28												
F ₆ 5160 × Од221	76	0,62	108	0,46	159	0,47	80	0,55	154	0,72	187	0,35	162	0,72	161	0,56	126	0,55	78	0,53		
F ₆ 5944 × Од329	76	0,62	108	0,46	159	0,47	80	0,55	158	0,28	187	0,35	162	0,72	161	0,44	130	0,45	78	0,53	86	0,47
											191	0,65										
F ₆ 5947 × Од329	72	0,38	112	0,46	159	0,47	88	0,45	158	0,28	191	0,65	162	0,72	161	0,56	130	0,45	86	0,47		
F ₆ 6014 × Од329	72	0,38	108	0,46	159	0,47	80	0,55	154	0,72	187	0,35	162	0,72	161	0,56	126	0,55	86	0,47		
			76	0,62	112	0,54					191	0,65										

ДГ «Дачна», 2005 р.

ДГ «Дачна», 2006 р.

ДГ «Новоселівське», 2006 р.

У результаті ампліфікації поліморфних фрагментів ДНК вихідних батьківських ліній (ГК26 та Мо17), ліній-тестерів (Од221МВ, Од308МВ, Од329) та РІЛ (ГК26 та Мо17) F₄, F₆ за десятьма мікросателітними локусами визначено розмір їхніх алелів у парах нуклеотидів. За цими показниками складено матриці даних ДНК-типуювання, які перетворено у генетичні формули як літеро-числові записи коду маркерного локусу та розмірів його алелів. Код кожного SSR-локусу складався з назви відповідних праймерів і нижнього індексу – розміру алеля даного локусу в парах нуклеотидів. За такою методикою записано генетичні формули вихідних батьківських ліній та ліній-тестерів (табл. 3), а також рекомбінантних ліній з популяції F₄, F₆ та гіб-

ридів, отриманих від схрещування РІЛ F₄, F₆ і ліній-тестерів.

Генотипування РІЛ з популяцій F₄, F₆ дозволило визначити частоти алелів та їх сполучення для обох популяцій за десятьма дослідженими SSR-локусами (табл. 4).

Таблиця 8. Гетерозиготність тестерних гібридів за маркерними локусами

РІЛ з популяції	Рівень гетерозиготності маркерних локусів у гібридах з тестерами, %		
	Од221МВ	Од308МВ	Од329
F ₄	40	80	70
F ₆	60	70	90

Таблиця 9. Генетичні формули найкращих за конкурсним гетерозисом гібридів кукурудзи та їх батьківських форм

РІЛ, гібрид, тестер та стандарт	Генетичні формули	Урожай зерна, т/га	Рівень гетерозису, %
ДГ «Дачна», 2005 р.			
РІЛ-4372	phi044 ₇₂ nc030 ₁₀₈ phi084 _{155,159} phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 _{158,162} phi112 ₁₃₇ phi083 _{126,130} phi064 ₈₆		
Гібрид РІЛ F ₆ 4372 × Од308	phi044 _{72,76} nc030 ₁₀₈ phi084 _{159,163} phi061 ₈₀ phi057 _{150,158} phi031 _{187,191} phi080 _{162,166} phi112 _{137,153} phi083 _{126,130} phi064 ₈₆	4,12	43
Тестер – Од308	phi044 ₇₆ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₀ phi031 ₁₈₇ phi080 ₁₆₆ phi112 ₁₅₃ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆		
St – Дар 347		2,88	
ДГ «Дачна», 2006 р.			
РІЛ-5931	phi044 ₇₆ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₅₅ phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₂₆ phi064 ₇₈		
Гібрид РІЛ F ₆ 5931 × Од329	phi044 _{76,80} nc030 ₁₀₈ phi084 _{155,163} phi061 _{80,88} phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₂₆ phi064 _{78,86}	9,26	48
Тестер – Од329	phi044 ₈₀ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi061 ₈₈ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆		
St – Дн 453		6,26	
ДГ «Новоселівське», 2006 р.			
РІЛ-6014	phi044 _{72,76} nc030 _{108,112} phi084 ₁₅₉ phi061 ₈₀ phi057 ₁₅₄ phi031 _{187,191} phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 _{126,130} phi064 ₈₆		
Гібрид РІЛ F ₆ 6014 × Од329	phi044 _{72,80} nc030 _{108,112} phi084 _{159,163} phi061 _{80,88} phi057 _{154,158} phi031 _{187,191} phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 _{126,130} phi064 ₈₆	6,87	61
Тестер – Од329	phi044 ₈₀ nc030 ₁₀₈ phi084 ₁₆₃ phi061 ₈₈ phi057 ₁₅₈ phi031 ₁₉₁ phi080 ₁₆₂ phi112 ₁₆₁ phi083 ₁₂₆ phi064 ₈₆		
St – Дар 347		4,28	

За результатами сортовипробування 2005–2006 рр. визначено рівень зернової продуктивності та конкурсного гетерозису гібридів по відношенню до кращого стандарту. Показано також алельний склад та частоти алелів групи материнських ліній, які забезпечували максимальний гетерозис ($\geq 30\%$) з різними тестерами (табл. 5). Виявлено вплив зміни умов середовища на прояв певних алелів та відповідно на ступінь прояву гетерозису. Найвище значення гетерозису (61%) показано для гібрида від схрещування РІЛ F_6 6014 \times Од329. Оцінюючи значення молекулярно-генетичних формул, важливо виявити фактичну роль алелів як із меншим, так і з більшим розміром фрагментів. Як видно з даних табл. 5, у молекулярно-генетичних формулах РІЛ високогетерозисних гібридів переважають алелі, що мають більший розмір фрагмента, але закономірностей в алельних співвідношеннях не виявлено. За різних умов спостерігалось певне переформатування алельного складу РІЛ у високогетерозисних гібридів.

В той же час в одних і тих же гібридів у різних умовах проявлявся різний рівень гетерозису. Можливим поясненням може бути зміна характеру прояву певних алельних сполучень РІЛ та гібридів під впливом різних умов. Виявлені особливості свідчать про значний вплив умов вирощування на прояв певних алельних комплексів, які контролюють рівень гетерозису.

Оцінка загальної комбінаційної здатності (ЗКЗ) дозволила виявити лінії з високою та середньою генетичною цінністю. За підсумками визначення комбінаційної здатності проаналізовано алельний склад та розраховано частоти алелів за десятьма SSR-локусами групи РІЛ, які мали високе значення ефекту ЗКЗ (0,97–3,19) за різних умов вирощування (табл. 6, <http://cytgen.com/articles/4820012s.pdf>). Найбільше значення ефекту ЗКЗ (3,19) зафіксовано в РІЛ F_6 4449 та F_6 5999. При цьому в алельних комбінаціях РІЛ за десятьма дослідженими локусами не спостерігається чіткої різниці в залежності від рівня ЗКЗ.

Для кращих гібридних комбінацій проаналізовано алельний склад та частоти алелів у РІЛ F_4 , F_6 з високим значенням ефектів специфічної комбінаційної здатності (табл. 7, <http://cytgen.com/articles/4820012s.pdf>). Найбільш високі по-

казники отримано для РІЛ у гібридах F_4 4311 \times Од308 та 5897 \times Од329 зі значеннями ефектів СКЗ 2,31 та 2,73 відповідно. У загальній картині алельних співвідношень в дослідних групах РІЛ з високими значеннями ефектів СКЗ також не виявлено чітких тенденцій та зв'язків між цими характеристиками.

Аналіз алельних комбінацій гібридів виявив присутність гетерозигот у більшості маркерних локусів тестерних гібридів від РІЛ F_4 та F_6 (табл. 8). Отримані дані (табл. 5 і 8) дають можливість припустити, що рівень гетерозиготності гібридів може істотно впливати на їхню продуктивність.

За оцінкою рівня конкурсного гетерозису відібрано найкращі гібриди, для яких визначено алельний склад за десятьма мікросателітними локусами та записано їхню генетичну формулу (табл. 9). Як показують отримані дані, рівень гетерозису кращих гібридів сягнув 43–61%, але певних закономірностей у співвідношенні алельного складу досліджених локусів і рівня гетерозису гібридів не встановлено. На основі представлених результатів дослідження молекулярно-генетичних аспектів гетерозису у кукурудзи можна сподіватися, що при здійсненні більш широких розробок у цьому напрямі можна створювати панелі специфічних локусів, на основі яких стане можливим надійне прогнозування за ДНК-маркерами рівня гетерозису та ефективний добір унікальних батьківських компонентів для створення високопродуктивних гібридів.

*N.I. Bukreyeva, A.A. Belousov,
Yu.M. Sivolap*

Plant Breeding and Genetics Institute,
Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Odessa
E-mail: natastor@rambler.ru

ALLELE STRUCTURE OF POLYMORPHIC LOCI OF MAIZE LINES AND HYBRIDS AND ITS CORRELATION WITH HETEROSIS LEVEL

Polymorphism of parental lines GK26, Mo17 and lines-testers Od221MB, Od308MB, and Od329 was analyzed by SSR-PCR and genotyping of recombinant inbred lines (RIL) from populations F_4 , F_6 was carried out. Ten microsatellite loci allele combinations of parental lines, lines-testers and the best testcross hybrids were established and their molecular-genetic formulas were derived. The microsatellites allele structure of the best for combining ability lines and high-yield hybrids was investigated.

Н.И. Букреева, А.А. Белоусов, Ю.М. Сиволап

АЛЛЕЛЬНЫЙ СОСТАВ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ И ЕГО СВЯЗЬ С УРОВНЕМ ГЕТЕРОЗИСА У КУКУРУЗЫ

Проведен SSR-ПЦР анализ полиморфизма исходных линий ГК26, Мо17 и линий-тестеров Од221МВ, Од308МВ и Од329. Генотипированы рекомбинантные инбредные линии (РИЛ) из популяций (ГК26 × Мо17) F₄, F₆ по десяти полиморфным локусам. Определены аллельный состав и частота аллелей микросателлитных локусов исходных линий, линий-тестеров, лучших высокогетерозисных гибридов и построены их молекулярно-генетические формулы. Исследован аллельный состав микросателлитов лучших по параметрам комбинационной способности РИЛ высокопродуктивных гибридов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Charcosset A., Moreau L. Use of molecular markers for the development of new cultivars and the evaluation of genetic diversity // *Euphytica*. – 2004. – **137**. – P. 81–94.
2. Guimaraes E.P., Ruane J., Schert B.D. et al. Marker-assisted selection. Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. – Rome : FAO, 2007. – 471 p.
3. Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Календарь Р.Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. – Одесса : Астропринт, 2011. – 335 с.
4. Ajmone Marsan P., Gorni C., Chitto A. et al. Identification of QTLs for grain yield and grain related traits of maize (*Zea mays* L.) using an AFLP map, different testers, and cofactor analysis // *Theor. Appl. Genet.* – 2001. – **102**. – P. 230–243.
5. Barbosa A.M., Geraldi I.O., Benchimol L.L. et al. Relationship of intra- and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers // *Euphytica*. – 2003. – **130**. – P. 87–99.
6. Moreau L., Charcosset A., Gallais A. Experimental evaluation of several cycles of marker-assisted selection in maize // *Euphytica*. – 2004. – **137**. – P. 111–118.
7. Blanc G., Charcosset A., Mangin B. et al. Connected populations for detecting quantitative trait loci and testing for epistasis: an application in maize // *Theor. Appl. Genet.* – 2006. – **113**. – P. 206–224.
8. Schrag T.A., Möhring J., Maurer H.P. et al. Molecular marker-based prediction of hybrid performance in maize using unbalanced data from multiple experiments with factorial crosses // *Theor. Appl. Genet.* – 2009. – **118**. – P. 741–751.
9. Bernardo R. Molecular markers and selection for complex traits in plants: learning from the last 20 years // *Crop Sci.* – 2008. – **48**. – P. 1649–1664.
10. Ragot M., Lee M. Marker-assisted selection in maize: Current status, potential, limitations and perspectives from the private and public sectors. – Rome : FAO, 2007. – P. 117–150.
11. Yousef G.G., Juvik J.A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet corn // *Crop Sci.* – 2001. – **41**. – P. 645–655.
12. Белоусов А.О., Сиволап Ю.М., Соколов В.М., Доменюк В.П. Спосіб прогнозування рівня розвитку кількісних ознак у популяціях злакових культур // Патент на винахід № 86180. – Державний реєстр патентів України. – 2009.
13. Доменюк В.П., Белоусов А.О., Сиволап Ю.М. Добір за ДНК-маркерами локусів кількісних ознак в селекції кукурудзи // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. – 2003. – № 3(2). – С. 87–91.
14. Сиволап Ю.М., Соколов В.М., Белоусов А.О., Доменюк В.П. Генетичне поліпшення популяцій кукурудзи шляхом добору за ДНК-маркерами локусів кількісних ознак : Метод. рекомендації. – Одеса, 2003. – 12 с.
15. Зенищева Л.С. Наследуемость количественных признаков, определяющих устойчивость растений к полеганию // С.-х. биология. – 1968. – Вып. 3. – С. 790–794.
16. Дремлюк Г.К., Герасименко В.Ф. Приемы анализа комбинационной способности и ЭВМ-программы для нерегулярных скрещиваний. – М.: Агропромиздат, 1992. – 144 с.
17. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1973. – 366 с.
18. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях : Науч.-метод. рук-во / Под ред. Ю.М. Сиволапа. – Киев : Аграр. наука, 1998. – 156 с.
19. Burmeister M., di Sibio G., Cox D.R., Myers R.M. Identification of polymorphism by genomic denaturing-gradient-gel electrophoresis: application to the proximal region of human chromosome 21 // *Nucl. Acids Res.* – 1991. – **19**. – P. 1475–1481.
20. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 479 с.

Надійшла 20.03.12