

УДК 633.15:631.524:575.113:542.1

Н. І. БУКРЕЄВА¹,**А. О. БЕЛОУСОВ²,** докт. біол. наук,**Ю. М. СИВОЛАП¹,** докт. біол. наук, академік НААНУ¹ Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААНУ,

Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна,

тел.: +38 (0482) 39 55 57, e-mail: natastor@rambler.ru,

² Селекційно-генетичний інститут — Національний центр
насіннезнавства та сортовивчення НААНУ,

Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

КЛАСТЕРНО-КОРЕЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ ПОПУЛЯЦІЙ РЕКОМБІНАНТНИХ ЛІНІЙ І ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ НА ОСНОВІ SSR-ПЛР

Здійснено SSR-ПЛР аналіз поліморфізму вихідних ліній ГК 26 і Мо 17 та ліній-тестерів Од 221 МВ, Од 308 МВ і Од 329. Генотиповано популяції рекомбінантних інбредних ліній (РІЛ) (ГК 26 × Мо 17) F₄, F₆ за поліморфними локусами. Проведено кластерний та кореляційний аналізи популяцій РІЛ та визначена кореляційна залежність між генетичною дистанцією і рівнем продуктивності гібридів. Визначено аельний склад мікросателітних локусів вихідних ліній, ліній-тестерів, кращих тестерних гібридів та побудовано їх генетичні формули. Показано рівень гетерозису кращих гібридів, отриманих з використанням маркерного добору.

Ключові слова: лінії, гібриди, кукурудза, SSR-аналіз, генетичний поліморфізм, аельний склад, рівень гетерозису.

Більшість господарсько цінних ознак культурних рослин, включаючи продуктивність та якість врожаю, є кількісними [5, 6, 17, 18]. Дослідження їх генетичної природи на основі аналізу поліморфізму ДНК є актуальними та перспективними [9, 12, 15, 16]. Це пов'язано також і з необхідністю створення біомоделей прогнозування рівня гетерозису за допомогою ДНК-маркерів локусів кількісних ознак [20].

На даний час розроблено синтетичні підходи, які поєднують методи традиційної селекції та ДНК-технології і відомі під назвою Marker assisted selection (MAS) — селекція на основі маркерного добору. MAS робить можливим ранній добір і особливо ефективна за ознаками з низьким або середнім коефіцієнтом успадкованості [15, 20, 22].

Більшість досліджень ефективності MAS-доброру кукурудзи виконані на базі вибірок самозапилених ліній, які включали як генетично споріднені, так і неспоріднені лінії з різних гетерозисних груп [8, 22]. З огляду на це, становило науковий і практичний інтерес дослідити закономірності MAS-доброру в популяціях рекомбінантних інбредних ліній, отриманих шляхом запилення і добору генотипів у сегрегуючих гібридних популяціях. Виконані раніше дослідження в цьому напрямі були пов'язані лише з генетичним покращенням РІЛ-популяцій за певними господарсько-цінними ознаками [1—4]. Але не були досліджені такі важливі аспекти, як генетична і кластерна структура РІЛ-популяцій за генетичною дистанцією, розподіл рекомбінантних генотипів відносно стартових елітних ліній, на

основі яких була створена вихідна гібридна популяція і отримана вибірка РІЛ генотипів.

Дискусійним залишається питання про рівень зв'язку між величиною генетичної дистанції між батьківськими лініями і рівнем продуктивності гібридів. За даними різних авторів, показники кореляції (r) змінювались у широких межах (від 0,08 до 0,61) залежно від рівня спорідненості батьківських форм [10, 11, 14, 19, 21]. Ці дослідження були виконані на лініях різного походження, належних до різних типів зародкової плазми.

Тому інтерес становило дослідження характеру зв'язку між величиною генетичної дистанції батьківських форм і рівнем продуктивності гібридів на широкій вибірці рекомбінантних ліній і гібридів, отриманих від схрещування РІЛ і спеціально добраних тестерів. Крім зазначеного, важливим завданням дослідження було визначення алейного складу маркерних SSR-локусів у кращих за конкурним гетерозисом гібридів і побудова їх генетичних формул.

Матеріал та методи

Вихідний матеріал — батьківські лінії ГК26, Мо17, сегрегуюча популяція (ГК 26 × Мо 17) F_2 і лінії-тестери (лінії, які було використано як батьківські на ділянках гібридизації з РІЛ) Од 308 МВ, Од 221 МВ і Од 329 — надано лабораторією генетико-біотехнологічних методів селекції кукурудзи Селекційно-генетичного інституту — НЦНС. Інбредні лінії суттєво різняться за основними морфо-біологічними ознаками і належать до різних гетерозисних груп — Iodent, Lancaster, Mindszenpuszta, відповідно, а лінії Од 221 МВ і Од 329 належать до окремих гетерозисних груп, які утворюють з лініями інших груп високогетерозисні гібриди.

Схрещування рекомбінантних ліній з популяцій F_4 , F_6 з тестерами та сортовипробування отриманих гібридів провадили на експериментальній базі СГІ — НЦНС «Дачна» протягом 2005—2006 років. Рівень конкурсного гетерозису визначали у програмі “EXCEL” відносно кращого стандарту за формулою Peter and Frey у викладі Л. С. Зенищевої [7]:

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

де F_1 — урожай гібриду;

st — урожай стандартного гібриду.

Для детекції поліморфізму ДНК використано різновид полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) — SSR. ДНК виділяли з листя кукурудзи із застосуванням цетавлону [13]. Умови ампліфікації ДНК оптимізовані для приладу MJ Research (PTC-200). Реакційна суміш об'ємом 20 μ l містила 50 мМ KCl, 20 мМ тріс-HCl (рН 8,4 при 25°C), 0,01% Tween-20, мМ $MgCl_2$, 0,2 μ М праймера, 200 μ М кожного dNTP, 20 нг геномної ДНК, 1 од. Taq — полімерази. Для ампліфікації SSR-локусів використали такі температури: початкова денатурація — 93°C 1 хв., далі — 20 сек.; гібридизація — 57°C (phi 064 і phi 061) — 60°C (phi 083) — 65°C (nc 030) — 20 сек. — 31 цикл; синтез — 70°C 20 сек.; остання елонгація — 7 хв.

Попередню оцінку ампліконів провадили у 4% агарозному гелі на TBE буфері (89 мМ тріс, 89 мМ H_3BO_3 , 2 мМ ЕДТА, рН 8.0) — 1 год. при 80 V, забарвлювали бромистим етидієм (1 мг/мл). Фотографували гелі в ультрафіолетовому промінні з червоним світлофільтром на плівку «Мікрат-300». Для більш чіткої виразності провадили електрофорез у поліакриламідному гелі на обладнанні Hoefer SE600. Склад гелю: 10% акриламід, 1xTBE з

використанням денатуруючих агентів — 7 М сечовина, 0,01% формамід (у буфері для зразків). Перед нанесенням у лунки зразки кип'ятили 2 хв. Товщина гелю — 0,75 мм. Умови електрофорезу: 500 V протягом 1 год. при 65°C. Забарвлювали гелі азотнокислим сріблом. Документували отримані електрофореграми за допомогою відеосистеми VDS (Pharmacia Biotech). Для підвищення точності молекулярну вагу поліморфних фрагментів ДНК обраховували за допомогою комп'ютерної програми "Image Master 1D Elite" згідно із стандартом pUC19/MspI, pBR322/MspI та λ /PstI (Fermentas).

Побудову дендрограм та розрахунок генетичних дистанцій провадили за допомогою багатомірних статистичних методів пакета програм фірми StatSoft, Inc., (США) STATISTICA (V 8.0), з використанням критерію агломерації ближчого сусіда (Single linkage), який базується на матриці даних попарних генетичних дистанцій — кластери об'єднуються за мінімальною відстанню між двома ближніми сусідами при кожному циклі підрахунку. Як функцію відстані, використовували евклідову метрику.

Кореляційний аналіз провадили з використанням стандартної комп'ютерної програми "EXCEL". Достовірність середніх значень показників визначали за допомогою критерію Стьюдента (t-критерій).

Результати та обговорення

Генетичний поліморфізм вихідних ліній ГК 26, Мо 17 і ліній-тестерів Од 221 МВ, Од 308 МВ і Од 329. З використанням 36 пар SSR-праймерів проведено порівняльний аналіз геномної ДНК елітних ліній ГК 26 та Мо17, на основі яких була отримана сегрегуюча популяція F_2 та популяції РІІ (ГК26 \times Мо17) F_4 , F_6 . Відібрано 10 пар праймерів (nc 030, phi 061, phi 064, phi 083, phi 031, phi 044, phi 057, phi 084, phi 080, phi 112), що детектували поліморфізм у батьківських форм РІІ, ліній ГК 26 і Мо 17 (табл. 1), у 8 хромосомах з десяти (рис. 1).

Таблиця 1

Поліморфні SSR-локуси вихідних ліній ГК 26 і Мо 17

SSR-локус, код	Геномна локалізація	Назва продукту гена	Мол. вага поліморфних продуктів (п.о.)	
			ГК 26	Мо 17
phi 064, J	1.11	Мієліноподібний, лужний білок	86-86	78-78
phi 083, I	2.04	Гомолог вірусного білка теляти	126-126	130-130
nc 030, B	3.04	Трифосфатізомераза, ген 1	112-112	108-108
phi 031, F	6.03	P1-Vh ген, зафарбовані плями на алеїроні без кольору	187-187	191-191
phi 112, H	7.01	Ораque 2 ген, ендосперм непрозорий, підвищений вміст лізину в білку (4,0 %)	137-137	161-161
phi 057, E	7.01	Глутатіон S-трансфераза 1	154-154	158-158
phi 080, G	8.08		162-162	158-158
phi 044, A	9.01	Ваху, ендосперм восковидний	76-76	72-72
phi 061, D	9.03	Сахарозсинтетаза (sh1), різке зниження накопичення крахмалу	88-88	80-80
phi 084, C	10.04	NaCl стрес-білок	159-159	155-155

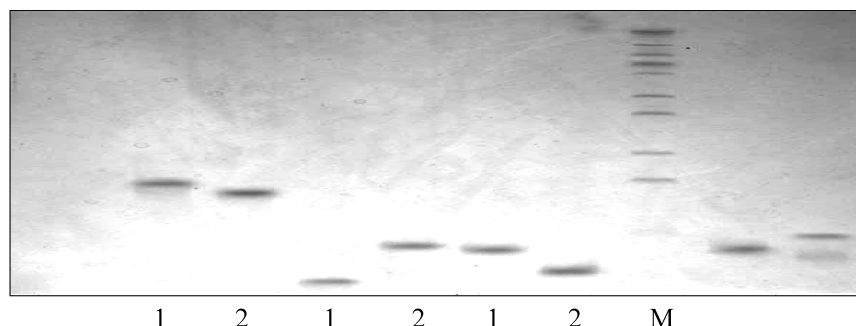


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації SSR-локусів:
лс 030, phi 061, 064; 1 — ГК26, 2 — Мо 17,
М — маркер молекулярної ваги (pBR322/MspI)

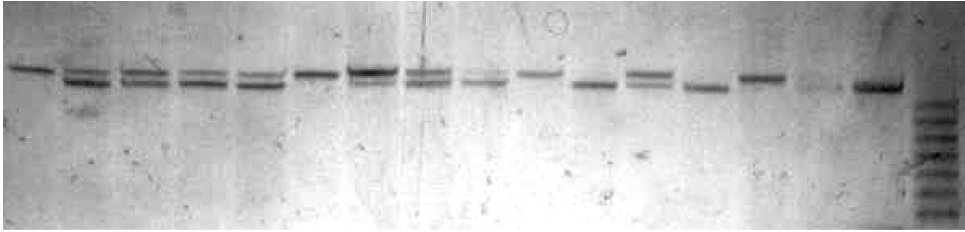
SSR-ПЛП — аналіз ліній-тестерів Од 221 МВ, Од 308 МВ і Од 329 з використанням 36 пар SSR-праймерів дозволив виділити 14 пар (phi 061, phi 091, phi 113, phi 115, phi 014, phi 031, phi 041, phi 042, phi 044, phi 056, phi 114, phi 057, phi 080, phi 112), які детектували поліморфний стан локусів. Порівняльний аналіз поліморфних продуктів за молекулярною вагою наданий у таблиці 2.

Таблиця 2

Характеристика ліній тестерів Од 221 МВ, Од 308 МВ і Од 329 за поліморфними SSR-локусами

SSR-локус	Геномна локалізація	Молекулярна вага поліморфних продуктів (п.о.)		
		Од 221	Од 308	Од 329
phi 056 AB	1.01	93-93	90-90	99-99
phi 113 AB	5.02	146-146	114-114	118-118
phi 031 AB	6.03	215-215	215-215	187-187
phi 112 AB	7.01	122-122	132-132	140-140
phi 057 AB	7.01	154-154	151-151	157-157
phi 091 AB	7.03	140-140	150-150	145-145
phi 114 AB	7.02	170-170	178-178	178-178
phi 080 AB	8.08	160-160	164-164	160-160
phi 014 AB	8.04	165-165	165-165	168-168
phi 115 AB	8.03	94-94	94-94	102-102
phi 044 AB	9.01	84-84	76-76	80-80
phi 061 AB	9.03	80-80	80-80	88-88
phi 042 AB	9.04	174-174	186-186	186-186
phi 041 AB	10.00	144-144	140-140	140-140

За поліморфними локусами, що були детектовані в батьківських ліній, проведено генотипування в популяціях РІЛ (ГК 26 × Мо 17) F_4 , F_6 (рис. 2).



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

Рис. 2. Електрофореграма генотипування популяції РІЛ (ГК 26 × Мо 17) F_4 за SSR-локусом *phi 084*; М — маркер молекулярної ваги (набір фрагментів у діапазоні 128-152 п.н. з кроком у 4 нуклеотида)

Генотипування зразків ДНК РІЛ F_4 , F_6 (239 та 477 зразків, відповідно) за десятьма SSR-локусами з визначеною молекулярною вагою дозволило простежити розщеплення за поліморфними локусами в популяціях та визначити алельний стан кожного з десяти локусів. Розширення вибірки дозволило виявити варіабельність популяцій та розподілити генотипи РІЛ за їх спорідненістю.

Кластерний аналіз вихідних ліній, ліній-тестерів та популяцій РІЛ F_4 , F_6 .

Для визначення рівня генетичних розбіжностей між батьківськими лініями і лініями-тестерами проведено розрахунок генетичних дистанцій та кластерний аналіз (рис. 3).

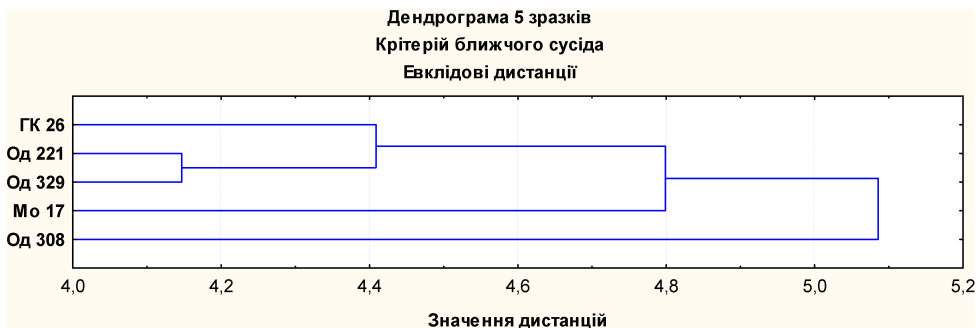


Рис. 3. Дендрограма філогенетичного зв'язку між вихідними лініями ГК 26, Мо 17 та лініями-тестерами Од 221 МВ, Од 308 МВ, Од 329

Лінії-тестери Од 221МВ і Од 329, батьківські лінії ГК 26 і Мо 17 та лінія-тестер Од 308 МВ згрупувалися в чотири субкластери з величиною генетичної дистанції 4,146; 4,408; 4,798 та 5,085, відповідно. Максимальна відстань відмічена для лінії тестера Од 308 МВ. Виявлені молекулярно-генетичні розбіжності між лініями відповідають їх дійсному походженню з різних гетерозисних груп зародкової плазми та підтверджують їхню здатність давати високий гетерозис при схрещуванні між собою.

Для проведення кластерного аналізу популяцій РІЛ F_4 , F_6 визначено генетичні дистанції (ГД) для кожної популяції окремо щодо батьківських форм та ліній тестерів. Оцінено молекулярно-генетичні взаємовідносини груп РІЛ, для яких об'єктами тяжіння є лінії-індикатори ГК 26 та Мо 17 (табл. 3).

Таблиця 3

Дані кластерного аналізу популяції РІЛ F₄ та вихідних ліній
ГК 26 і Мо 17

Показники	Кластеризація РІЛ F ₄ відносно:					
	ГК 26			Мо 17		
	кластер генетично близьких РІЛ	кластер середньо віддалених РІЛ	кластер максимально віддалених РІЛ	кластер генетично близьких РІЛ	кластер середньо віддалених РІЛ	Кластер Максимально віддалених РІЛ
ГД \bar{X}	0,053	2,531	3,606	0,048	2,531	3,443
ГД lim	0,000-0,067	2,046-2,930	3,370-4,168	0,000-0,061	2,002-2,816	3,277-4,097
Кількість РІЛ	46 ліній	154 ліній	39 ліній	41 лінії	161 ліній	37 ліній
%	20	64	16	18	67	15

Подібно, за генетичними профілем сформовано базу даних для ліній тестерів Од 308 МВ, Од 329 і Од 221МВ. Оцінено міжкластерні та внутрішньогрупові ліміти дистанцій для всіх груп тяжіння (табл. 4).

Таблиця 4

Дані кластерного аналізу популяції РІЛ F₄ та ліній-тестерів
Од 221МВ, Од 308 МВ, Од 329

Показники	Кластеризація РІЛ F ₄ відносно:								
	Од 221МВ			Од 308МВ			Од 329		
	кластер генетично близьких РІЛ	кластер середньо віддалених РІЛ	кластер максимально віддалених РІЛ	кластер генетично близьких РІЛ	кластер середньо віддалених РІЛ	кластер максимально віддалених РІЛ	кластер генетично близьких РІЛ	кластер середньо віддалених РІЛ	кластер максимально віддалених РІЛ
ГД \bar{X}	1,463	2,298	3,567	2,039	3,039	3,890	2,046	3,251	3,806
ГД lim	0,670-1,757	1,833-2,897	3,170-4,268	1,739-2,201	2,459-3,400	3,443-4,262	1,459-2,238	2,859-3,400	3,450-4,268
Кількість РІЛ	2 лінії	197 ліній	40 ліній	1 лінія	9 ліній	229 ліній	8 ліній	192 лінії	39 ліній
%	0,8	82	17,2	0,4	85	14,6	3,2	80	16,8

За результатами послідовності агломерації груп РІЛ стало можливим визначення структури молекулярно-генетичних взаємовідносин у популяції між різними кластерами щодо кожної з ліній-індикаторів (табл. 3) та тестерів (табл. 4).

Отримані дані також надали можливість виділити декілька груп ліній, у тому числі споріднених (генетично близьких), середнього віддалення та групу максимального віддалення від індикаторів та тестерів з відповідними внутрішньогруповими та середньогруповими генетичними дистанціями. Така кластерна диференціація ліній свідчить про значну молекулярно-генетичну відмінність РІЛ F_4 , F_6 як щодо вихідних ліній-індикаторів, так і ліній-тестерів. Це дозволяє рекомендувати добір генетично віддалених генотипів з метою отримання на їх основі високопродуктивних гібридів.

Кореляційний аналіз генетичних дистанцій РІЛ F_4 та врожайності гібридів. За даними ПЛР-аналізу та врожайності гібридів сформовано базу даних для визначення кореляційних зв'язків між значеннями генетичних дистанцій рекомбінантних ліній F_4 , F_6 та врожайністю гібридів, отриманих за участі РІЛ і ліній-тестерів Од 308 МВ, Од 329 і Од 221МВ. Узагальнені дані для популяції F_4 наведені в таблиці 5.

Таблиця 5

Коефіцієнти кореляції між генетичними дистанціями та врожайністю зерна гібридів від схрещування РІЛ F_4 з тестерами Од 221МВ, Од 308 МВ, Од 329

РІЛ/тестер	Середнє значення ГД	Коефіцієнт кореляції, г
РІЛ F4/Од221	2,298	0,06
РІЛ F4/Од308	3,039	0,34*
РІЛ F4/Од329	3,251	0,52*

* достовірно при 5-процентному рівні вірогідності ($P = 0,05$)

Як показують дані кореляційного аналізу, відносно низьким значенням генетичних дистанцій (<2,5) відповідали низькі значення коефіцієнта кореляції ($r = 0,06$). Середні значення ГД обумовлювали значно більші ($r = 0,34$) або середні ($r = 0,52$) значення коефіцієнта кореляції. Тенденцію підвищення рівня кореляційних відносин між ГД і продуктивністю гібридів при зростанні рівня генетичних дистанцій наглядно підтверджує рисунок 5.

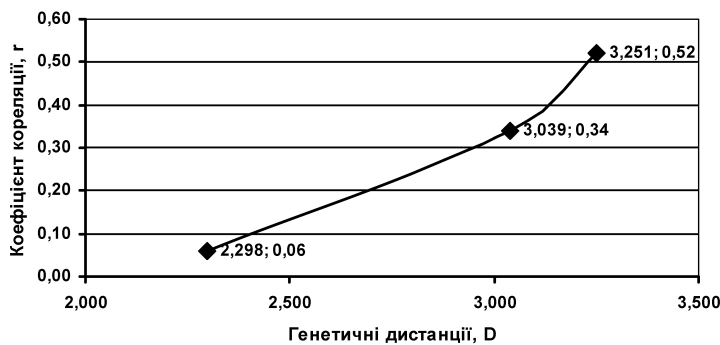


Рис. 5. Залежність між значеннями коефіцієнта кореляції і рівня генетичних дистанцій в популяції рекомбінантних ліній F_4

Представлені результати підтверджують лише загальні тенденції у функціонуванні складного механізму взаємовідносин між генетичною різноякісністю геномів і рівнем продуктивності їх гібридів [10-11, 19]. Насправді ця проблема набагато складніше і потребує подальших досліджень. Але виявлена тенденція підтверджує можливість збільшення продуктивності гібридів шляхом добору батьківських пар з більшим рівнем генетичної дистанції.

Алельний склад маркерних локусів та генетичні формули вихідних ліній, ліній-тестерів, РІЛ та гібридів. За результатами ампліфікації фрагментів ДНК вихідних батьківських ліній (ГК 26 та Мо 17), ліній тестерів (Од 308 МВ, Од 329 і Од 221МВ) та популяції РІЛ (ГК 26 x Мо 17) F₄, F₆ визначено розмір алелів у парах нуклеотидів (п.н.) за десятьма мікросателітними локусами. За цими показниками складено матриці даних ДНК-типуювання вихідних ліній, РІЛ та гібридів, які перетворені на генетичні формули як літеро-числові записи коду маркерного локусу та розмірів його алелів. Кожен SSR-локус кодували літерою латинського алфавіту, як нижній індекс використовували розмір даного локусу в п.н.

За такою методикою записано генетичні формули батьківських ліній та ліній-тестерів (табл. 6), а також рекомбінантних ліній з популяції F₄, F₆ та гібридів, отриманих від схрещування РІЛ F₄, F₆ і ліній-тестерів.

Таблиця 6

Генетичні формули вихідних ліній ГК 26 і Мо 17 та ліній-тестерів Од 221МВ, Од 308 МВ, Од 329

Назва ліній	Генетична формула
ГК 26	A ₇₆ B ₁₁₂ C ₁₅₉ D ₈₈ E ₁₅₄ F ₁₈₇ G ₁₆₂ H ₁₃₇ I ₁₂₆ J ₈₆ K ₉₀ L ₁₁₄ M ₁₄₅ N ₁₇₀
Мо 17	A ₇₂ B ₁₀₈ C ₁₅₅ D ₈₀ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G ₁₅₈ H ₁₆₁ I ₁₃₀ J ₇₈ K ₉₀ L ₁₁₄ M ₁₄₅ N ₁₇₀
Од 221	A ₈₄ B ₁₀₈ C ₁₆₃ D ₈₀ E ₁₅₄ F ₁₈₇ G ₁₆₂ H ₁₃₇ I ₁₂₆ J ₈₆ K ₉₃ L ₁₄₆ M ₁₄₀ N ₁₇₀
Од 308	A ₇₆ B ₁₀₈ C ₁₆₃ D ₈₀ E ₁₅₀ F ₁₈₇ G ₁₆₆ H ₁₅₃ I ₁₂₆ J ₈₆ K ₉₀ L ₁₁₄ M ₁₅₀ N ₁₇₈
Од 329	A ₈₀ B ₁₀₈ C ₁₆₃ D ₈₈ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G ₁₆₂ H ₁₆₁ I ₁₂₆ J ₈₆ K ₉₉ L ₁₁₈ M ₁₄₅ N ₁₇₈

Для гібридів визначено рівень конкурсного гетерозису (H, %) за результатами сортовипробування 2005—2006 років по відношенню кращого стандарту. За результатами оцінки рівня гетерозису відібрано кращі гібриди, для яких був визначений алельний склад та записана генетична формула за десятьма мікросателітними локусами (табл. 7).

Таблиця 7

Генетичні формули кращих за конкурним гетерозисом гібридів та їхніх батьківських форм

Назва РІЛ, гібриду та тестера	Генетична формула	H, %
РІЛ-4372	A ₇₂ B ₁₀₈ C _{155,159} D ₈₀ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G _{158,162} H ₁₃₇ I _{126,130} J ₈₆	
РІЛ-4372 x Од308	A _{72,76} B ₁₀₈ C _{159,163} D ₈₀ E _{150,158} F _{187,191} G _{162,166} H _{137,153} I _{126,130} J ₈₆	43
Од 308	A ₇₆ B ₁₀₈ C ₁₆₃ D ₈₀ E ₁₅₀ F ₁₈₇ G ₁₆₆ H ₁₅₃ I ₁₂₆ J ₈₆	
РІЛ-5931	A ₇₂ B ₁₀₈ C ₁₅₅ D ₈₈ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G ₁₆₂ H ₁₆₁ I ₁₂₆ J ₇₈	
РІЛ-5931 x Од329	A _{72,80} B ₁₀₈ C _{155,163} D ₈₈ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G ₁₆₂ H ₁₆₁ I ₁₂₆ J _{78,86}	48
Од 329	A ₈₀ B ₁₀₈ C ₁₆₃ D ₈₈ E ₁₅₈ F ₁₉₁ G ₁₆₂ H ₁₆₁ I ₁₂₆ J ₈₆	

Рівень гетерозису кращих гібридів з тестером Од 221 МВ коливався від 5 до 34 %, з тестером Од 308 МВ — у межах 5—43 %, а з тестером Од 329 МВ відмічено найвищий рівень гетерозису, що сягав 48 %.

За результатами виявлення кращих за рівнем гетерозису гібридів визначено групу материнських ліній, які забезпечують високий гетерозис (10—48 %) з різними тестерами.

Генетичні дистанції материнських форм кращих гібридів також мали досить високі значення, а коефіцієнт їх кореляції з продуктивністю для високогетерозисної групи гібридів склав 0,41.

Таким чином, аналіз алельного складу SSR-локусів батьківських ліній дозволив визначити генетичні формули кращих за врожайністю зерна гібридів з рівнем гетерозису 43—48 %.

Висновки

1. Генотипування популяції (ГК 26 x Мо 17) F_4 , F_6 за десятьма поліморфними SSR-локусами дозволило генетично диференціювати популяції рекомбінантних інбредних ліній на основі їх суттєвих розбіжностей за рівнем генетичних дистанцій.

2. У результаті кластерного аналізу популяцій РІЛ виділені групи споріднених (генетично близьких) та неспоріднених (генетично віддалених) рекомбінантних ліній, що дозволяє обрати ефективні шляхи їх подальшого раціонального використання з метою отримання високо гетерозисних гібридів.

3. Визначено характер кореляційних відносин між значеннями генетичної дистанції батьківських пар та рівнем продуктивності їх гібридів. Показано, що зі збільшенням генетичної дистанції рівень продуктивності гібридів до певної міри може зростати.

4. Визначено генетичні формули кращих гібридів, отриманих за участі рекомбінантних інбредних ліній маркерного добору, рівень конкурсного гетерозису яких становив 39—51 %.

Література

1. Доменюк В. П., Белоусов А. А., Сиволап Ю. М. ДНК-маркирование количественных признаков кукурузы // Цитология и генетика. — 2002. — № 6. — С. 12–19.

2. Доменюк В. П., Вербицкая Т. Г., Белоусов А. А., Сиволап Ю. М. Маркерный анализ количественных признаков кукурузы при помощи ISSR-ПЦР // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 10. — С. 1370–1378.

3. Доменюк В. П., Сторчеус Н. І., Белоусов А. О., Сиволап Ю. М. ДНК-маркування ознак продуктивності кукурудзи методом SSR-ПЛР // Вісник Одес. нац. ун-ту. — 2003. — Т. 8, вип. 1. — С. 59–67.

4. Доменюк В. П., Белоусов А. О., Сиволап Ю. М. Добір за ДНК-маркерами локусів кількісних ознак в селекції кукурудзи // Вісник Харків. нац. аграрного ун-ту. — 2003, № 3(2). — С. 87–91.

5. Драгавцев В. А., Литун П. П., Шкель Н. М. и др. Модель эколого-генетического контроля количественных признаков растений // Докл. АН СССР. — 1984. — Т. 274, № 3. — С. 720–723.

6. Животовский Л. А. Интеграция полигенных систем в популяциях. — М.: Наука, 1984. — С. 27–46.

7. Зенищева Л. С. Наследуемость количественных признаков, определяющих устойчивость растений к полеганию // С.-х. биология. — 1968. — Вып. 3. — С. 790–794.

8. Кожухова Н. Э., Вареник Б. Ф., Сиволап Ю. М. Прогнозирующий потенциал ДНК-маркеров в гетерозисной селекции кукурузы // Цитология и генетика. — 2005, — Т. 39, № 1. — С. 14–20.
9. Созинов А. А., Глазко В. И. Современные технологии в решении традиционных вопросов генетики и селекции // Цитология и генетика. — 1999. — Т. 33, № 6. — С. 53–73.
10. Ajmone-Marsan P., Castiglioni P., Fusari F. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed RFLP and AFLP markers // Theor. Appl. Genet. — 1998. — Vol. 98, № 2. — P. 219–227.
11. Ajmone-Marsan P., Gorni C., Chitto A. 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. — Vol. 102, N 2–3. — P. 230–243.
12. Austin D. F., Lee M. Comparison of QTL mapping for plant height in F2:3 and F6:7 generation // Maize genetics cooperation, New letters. — 1995. — № 69. — P. 7–8.
13. 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 // Nucleic Acids Res. — 1991. — V. 19. — P. 1475–1481.
14. Chris G. Schon, H. Friedrich Utz, Albrecht E. Melchinger et al. Quantitative Trait Locus Mapping Based on Resampling in a Vast Maize Testcross Experiment and Its Relevance to Quantitative Genetics for Complex Traits // Genetics. — 2004. — V. 167. — P. 485–498.
15. Crossa J. et al. Interpreting genotype x environment interaction in tropical maize using linked molecular markers and environmental covariables // Theor Appl Genet. — 1999. — V. 99. — P. 611–625.
16. Duple C. M. et al. Molecular mapping and gene action of Scm1 and Scm2, two major QTL contribution to SCMV resistance in maize // Plant Breeding. — 2000. — V. 119. — P. 299–303.
17. Mather K. The genetical theory of continuous variation // Hereditas. — 1949. Suppl.: Proc. Of 8th Intern. Congr. Genetics. — P. 376–401.
18. Mather K., Jinks J. Biometrical genetics. Cambridge: Univ. Pres, — 1982. — 396 p.
19. Melchinger A., Lee M., Lamkey K. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms and heterosis for two diallel sets of maize inbreds // Theor. Appl. Genet. — 1990. — Vol. 80, N 4. — P. 488–496.
20. Rongling Wu, Chang-Xing Ma, George Casella. Statistical Genetics of Quantitative Traits: Linkage, Maps and QTL. // Springer Science, Business Media, LLC. — 2007. — P. 356.
21. Smith J. S. C., Smith O. S. The use of morphological, biochemical and genetic characteristics to measure distance and to test for minimum distance between inbred lines of maize (*Zea mays* L.) // Document UPOV Pioneer Hi — Bred. Int. INC. — 1989. — 18 p.
22. Tobias A. Schrag, Albrecht E. Melchinger et al. Molecular marker-based prediction of hybrid performance in maize using unbalanced data from multiple experiments with factorial crosses // Theor. Appl. Genet. — 2009. — V. 118. — P. 741–751.

Н. И. Букреева¹, А. А. Белоусов², Ю. М. Сиволап¹

¹ Южный биотехнологический центр в растениеводстве НААНУ, Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина

² Селекционно-генетический институт — национальный центр семеноводства и сортоизучения НААНУ, Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина, тел.: +38 (0482) 39 55 57, +38 (0482) 39 52 43, e-mail: natastor@rambler.ru

КЛАСТЕРНО-КОРРЕЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ ПОПУЛЯЦИЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ ЛИНИЙ И ГИБРИДОВ КУКУРУДЫ НА ОСНОВЕ SSR-ПЦР

Резюме

Проведен SSR-ПЦР анализ полиморфизма исходных линий ГК 26 и Мо 17 и линий тестеров Од 221 МВ, Од 308 МВ, Од 329. Генотипированы популяции рекомбинантных инбредных линий (РИЛ) (ГК 26 x Мо 17) F₄, F₆ по полиморфным локусам. Проведены кластерный и корреляционный анализы популяций РИЛ и определена зависимость между генетической дистанцией и уровнем продуктивности гибридов. Определен аллельный состав микросателлитных локусов исходных линий, линий-тестеров, лучших тестерных гибридов и составлены их генетические формулы. Оценен уровень гетерозиса лучших гибридов, полученных с использованием маркерного отбора.

Ключевые слова: линии, гибриды, кукуруза, SSR-анализ, генетический полиморфизм, аллельный состав, уровень гетерозиса.

N. I. Bukreyeva¹, A. O. Belousov², Yu. M. Sivolap¹

¹ South Plant Biotechnology Center, UAAS, Ovidiopolska dor., 3, Odesa, 65036, Ukraine, tel.: +38 (0482) 39 55 57,

e-mail: natastor@rambler.ru,

² Plant Breeding and Genetics Institute, UAAS, Ovidiopolska dor., 3, Odesa, 65036, Ukraine, tel.: +38 (0482) 39 52 43

THE CLUSTER AND CORELATION ANALYSIS OF RECOMBINANT INBRED LINES POPULATIONS AND HYBRIDS OF MAIZE ON THE SSR-PCR BASE

Summary

The SSR-PCR analysis of polymorphism of parental lines GK 26 and Mo 17 and lines-testers of Od 221 MB, Od 308 MB, Od 329 was conducted. The cluster and correlation analyses of recombinant inbred lines (RIL) populations and dependence between the genetic distance and hybrid performs levels were determed. The allelic composition of microsatellite loci for parental lines, line-testers and the best testcross hybrids with the heterosis level 43–48 % were detected.

Key words: lines and hybrids of maize, SSR-analysis, genetic polymorphism, allelic composition, level of heterosis.