

INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR

Cu titlu de manuscris
C.Z.U.: 633.15:[575.222.78:631.527](478)

MIHAILOV MIHAIL

**ELEMENTELE PRINCIPALE ALE ORGANIZĂRII GENETICE A
HETEROZISULUI LA PORUMB ȘI PARTICULARITĂȚILE
VALORIFICĂRII ACESTEIA ÎN SELECȚIA
PLANTELOR DIHAPLOIDE**

162.01. Genetică vegetală

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe biologice

Chișinău, 2021

Teza a fost elaborată în laboratorul „Genetica rezistenței plantelor” al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor

Consultanți științifici:

BOTNARI Vasile, doctor habilitat în științe agricole

LUPAȘCU Galina, doctor habilitat în științe biologice, profesor

Referenți oficiali:

MUSTEAȚA Simion, doctor habilitat în științe biologice, profesor

CESNOCOV Iurie, doctor în științe biologice, Instituția Federală Bugetară Științifică de Stat „Institutul de Cercetări Științifice în Agrofizică”, Sankt-Petersburg, Rusia

CERNOBAI Larisa, doctor în științe agricole, Institutul de Fitotehnie în num. V.I.Iuriev, Harkov, Ucraina.

Componența consiliului științific specializat:

GONCEARIUC Maria – *președinte*, doctor habilitat în științe agricole, profesor

COTENCO Eugenia – *secretar științific*, doctor în științe biologice

GRATI Vasile, doctor habilitat în științe biologice, profesor

ȚÎGANAȘ Vasile, doctor habilitat în științe agricole

BALAȘOVA Irina, doctor în științe biologice

CRIVOV Nicolai, doctor în științe biologice, profesor

TIMINA Olga, doctor în științe biologice, profesor

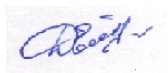
Susținerea va avea loc la "04" noiembrie " 2021, ora 10-00 în ședința Consiliului științific specializat DH 162.01-21-1 din cadrul Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, MD-2002, str. Pădurii, 20, Chișinău, Republica Moldova

Teza de doctor habilitat și rezumatul pot fi consultate la biblioteca Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Rezumatul a fost expediat la "01" august " 2021

Secretar științific al Consiliului științific specializat,

COTENCO Eugenia, doctor în științe biologice



Consultant științific,

BOTNARI Vasile, doctor habilitat în științe agricole



Consultant științific,

LUPAȘCU Galina, doctor habilitat în științe biologice



Autor

MIHAILOV Mihail



©MIHAILOV Mihail, 2021

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII	4
INTRODUCERE	8
1. GENETICA HETEROZISULUI ȘI OPORTUNITATEA SELECȚIEI DIHAPLOIDE	8
2. MATERIALE ȘI METODE	8
3. ESTIMĂRI NEDEPLASATE ALE PARAMETRILOR GENETICI PĂTRATI LA PORUMB	11
3.1. Evaluarea gradului mediu de dominare	13
3.2. Cazuri speciale de calcul al gradului de dominare	14
3.3. Estimarea numărului de factori genetici	14
3.4. Evaluarea experimentală a gradului de dominare	15
3.5. Analiza interacțiunilor non-alelice	17
3.6. Estimarea experimentală a numărului de factori activi	18
4. ESTIMAREA PARAMETRILOR GENETICI LINEARI ȘI LINKAGE-ULUI MEDIU LA PORUMB	20
4.1. Compararea estimărilor genetice liniare și pătratice	20
4.2. Heterozisul normalizat ca o caracteristică a caracterelor	21
4.3. Evaluarea <i>linkage</i> -ului mediu dintre locii activi	22
4.4. Recombinarea pe un fundal homozigot	23
5. OPORTUNITĂȚI DE SELECȚIE A PLANTELOR DIHAPLOIDE LA PORUMB	26
5.1. Schema de selecție suplimentată-restaurată	26
5.2. Testările-model ale diferitelor scheme ale selecției plantelor dihaploide	27
5.3. Selecția plantelor dihaploide în combinația hibridă Rf7×Ku123	29
5.4. Cazuri particulare de variabilitate genetică în combinația hibridă Rf7×Ku123	31
5.5. Selecția plantelor dihaploide în combinația hibridă MK01×A619	33
5.6. Interacțiuni non-alelice în liniile dihaploide și în <i>testcross</i> -uri	33
5.7. Randamentul boabelor în combinația hibridă MK01×A619	35
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE	38
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ	40
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI.....	44
ADNOTĂRI (română, engleză, rusă)	48

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. În ultimul timp, producția de porumb crește la nivel global într-un ritm mai rapid decât a altor cereale, datorită rolului său special ca principală cultură furajeră. Ponderea porumbului în producția totală de cereale a crescut de la 29% în 2000 la 38% în 2017, iar în mai multe țări această creștere este mult mai mare (SUA - 84%, China - 42%, Brazilia - 83%, Republica Moldova - 54%) [8]. Producția de porumb este în creștere datorită extinderii zonelor, îmbunătățirii tehnologiei agricole, precum și componentei genetice, care în țările dezvoltate este acum de 1% pe an [2].

În prezent, o mare importanță se acordă accelerării și optimizării procesului de ameliorare, deoarece metodele moderne de îmbunătățire a caracterelor sunt costisitoare și fiecare procent din creștere este mai scump decât în secolul trecut [2]. Un aport semnificativ în reducerea timpului revine în prezent folosirii dihaploizilor, adică genotipurilor obținute prin dublarea genomului haploizilor, deoarece acestea permit obținerea de linii consangvinizate recombinante în termeni restrânși și număr considerabil. Utilizarea acestora a devenit obligatorie în centrele avansate de selecție, cum ar fi Pioneer, Monsanto, Limagrain, KWS, CIMMYT etc. [23]. Oportunitățile dihaploizilor nu au fost încă valorificate pe deplin, iar identificarea noilor modalități de aplicare a acestora rămâne o sarcină stringentă [16, 23, 30].

Dihaploizii, de regulă sunt utilizați în principal pentru obținerea în număr mai mare a liniilor recombinante în schemele tradiționale de ameliorare [23]. S-a dovedit că dihaploizii sunt eficienți în introgresia genelor particulare prin retroîncrucișare [3, 21]. Teoretic, este posibilă introgresiunea simultană a mai multor gene, deoarece frecvența combinațiilor multigene în dihaploizi crește de multe ori datorită segregării gametice 1:1 [16]. Această caracteristică a dihaploizilor permite direcționarea selecției pentru a păstra sau exclude grupuri întregi de gene și a aplica noi scheme de selecție. Printre acestea putem menționa identificarea noilor modalități de fixare a heterozisului, asociată cu utilizarea dihaploizilor [30, 45]. Este posibil ca implicarea dihaploizilor să permită obținerea liniilor consangvinizate cu aceeași productivitate ca a hibrizilor și astfel să rezolve problema fixării heterozisului, care în pofida numeroaselor încercări nu a fost încă soluționată pentru porumb [43].

Posibilitățile de utilizare a dihaploizilor, rezultatele așteptate și ritmul realizării lor depind de organizarea genetică a caracterelor cantitative, care la moment este investigată fragmentar. Nu există o opțiune decisivă pentru ipoteza de dominare sau supradominare. Gradul de manifestare a efectului heterotic de către loci nu este clar completament. Nu există o claritate definitivă cu privire la influența interacțiunilor non-alelice și raportul dintre efectele pozitive și cele negative [9, 14].

Nivelul de cunoaștere a organizării genetice a caracterelor cantitative determină de asemenea, fiabilitatea modelării predictive a procesului de ameliorare, careia în prezent se acordă o atenție deosebită, deoarece permite reducerea timpului, resurselor și sporirii eficienței la implementarea noilor programe de ameliorare [2]. Eficiența optimizării depinde într-o anumită măsură de predictibilitatea fenotipului în baza genotipului, care este încă nesatisfăcătoare, ceea ce, în mod special, împiedică implementarea practică a metodei de selecție genomică [27]. Fiabilitatea pronosticului depinde, printre altele, de gradul de cunoaștere a interacțiunilor genetice, atât intraalelice, cât și interalelice. Prin urmare, studiul interacțiunilor care stau la baza organizării genetice a caracterelor cantitative este în prezent o sarcină de importanță stringentă.

Analiza organizării genetice a caracterelor cantitative este pusă în dificultate și de influența *linkage*-ului asupra estimărilor genetice. Efectele locilor adiacenți sunt dificil de separat, motiv pentru care datele biometrice adesea pot fi interpretate neunivoc. Această problemă există atât în analiza clasică, cât și în analiza *Quantitative Trait Loci* (QTL). Metode eficiente pentru aprecierea influenței *linkage*-ului nu au fost încă elaborate, ceea ce face dificilă evaluarea gradului mediu de dominare, numărului locilor activi, cât și a evaluării separate a efectelor pozitive și negative [9, 14].

Prezenta lucrare inițiază soluționarea acestei probleme prin elaborarea metodelor de obținere a unor estimări nedeplasate pentru analiza clasică și aplicarea lor în experiențele cu dihaploizii de porumb, în baza rezultatelor obținute fiind propuse elaborări și noi metode de selecție pentru plantele dihaploide.

Scopul lucrării constă în identificarea elementelor de bază ale organizării genetice a heterozisului la porumb pentru optimizarea procesului de selectare a plantelor dihaploide, orientată spre crearea liniilor consangvinizate cu productivitate înaltă.

Obiectivele cercetării:

- Elaborarea metodelor de calcul ale valorilor nedeplasate pentru parametrii genetici neafecțați de fenomenul de *linkage*.
- Analiza genetică a heterozisului în *testcross*-urile liniilor dihaploide, obținute în combinațiile hibride de porumb Rf7×Ku123 și MK01×A619 pentru diferite caractere cantitative, cu aprecierea următorilor parametri: gradul mediu de dominare, orientarea efectelor de dominare, numărul factorilor principali genetici activi, gradul de influență a interacțiunilor non-alelice.
- Elaborarea metodei de apreciere a intervalului *linkage*-ului mediu între locii caracterelor cantitative și utilizarea acesteia pentru verificarea corectitudinii estimărilor parametrilor genetici.

- Elaborarea metodei de selecție orientată spre acumularea în linia dihaploidă a cât mai multor alele favorabile ce aparțin formelor parentale ale hibridului simplu pentru a obține cea mai productivă linie homozigotă și a testa capacitățile sale prin simularea model.
- Efectuarea ciclurilor inițiale ale selecției dihaploide pentru combinațiile hibride de porumb Rf7×Ku123 și MK01×A619 și evaluarea eficacității acesteia.
- Compararea progresului real al ameliorării în combinațiile hibride Rf7×Ku123, MK01×A619 și aprecierea gradului de adecvare a modelului genetic aplicat.

Ipoteza de cercetare. Schema selecției dihaploide elaborată este concepută pentru natura dominantă a heterozisului. În caz contrar, dacă interacțiunile supradominante sunt responsabile pentru heterozis, schema propusă nu va atinge obiectivul preconizat - acumularea în linia homozigotă a cât mai multor efecte genetice responsabile de heterozis. Aplicabilitatea practică a acestei scheme depinde, de asemenea, de alți factori (interacțiuni nealelice, numărul de loci activi și modul distribuției acestora în genom), însă doar natura supradominantă a heterozisului face imposibilă aplicabilitatea schemei propuse. Prin urmare, succesul schemei de selecție suplimentată-restaurată depinde în primul rând de validitatea uneia dintre cele două ipoteze principale ale heterozisului - supradominanța și dominanța. În prezenta lucrare a fost necesară o claritate între aceste ipoteze, în cadrul analizei elementelor de bază ale organizării genetice a caracterele cantitative la porumb.

Metodologia de cercetare. Semințele haploide de porumb au fost obținute prin metoda matroclinică, polenizând plantele materne cu polen de la inductorii MHI și LHI [46]. Dihaploizii au fost obținuți prin tratamentul plantelor haploide cu colchicină conform metodei Deimling [7]. Analiza genetică a caracterelor cantitative a fost efectuată conform schemei experimentale NC-3 [5, 6], iar prelucrarea statistică a datelor – atât prin propriile metode, cât și elaborate anterior (metoda Comstock-Robinson – evaluarea gradului mediu de dominare [5], metoda Wright [28] – evaluarea numărului de factori genetici eficienți, metoda Cavalli – testarea interacțiunilor non-alelice [31]). Pachetul software Excel a fost utilizat pentru modelarea numerică, prelucrarea datelor și prezentarea grafică a rezultatelor.

Rezultatele științifice principale, înaintate spre susținere

1. Metode noi de analiză statistică, inclusiv o metodă pentru calcularea estimărilor nedeplasate ale parametrilor genetici pătratici, în care efectul de *linkage* este eliminat și metoda pentru estimarea pe intervale a *linkage*-ului medii între locii activi, pe baza comparației varianțelor categoriilor diferite.

2. Argumente originale în favoarea teoriei dominanței pentru porumb care constau în stabilirea valorilor dominanței medii nedeplasate, mai mici decât "1" și fundamentarea validității

statistice a teoriei prin creșterea numărului de exemple ce sprijină teoria, de la 4 la 10.

3. Legitățile genetice ale heterozisului la porumb, care constau în prevalența interacțiunilor dominante și semidominante direcționate pozitiv, cu gradul mediu tipic de dominare de 0,7 și cu unidirecționalitate ridicată; distribuția părții principale a efectului heterozis în câteva zeci de loci (aproximativ 30-70), dezechilibrul mediu de *linkage* între care (0,04-0,07) corespunde cu cel statistic așteptat.

4. Semnificația interacțiunilor homozigot-homozigote de tip complementar în manifestarea unor caractere valoroase la dihaploizii de porumb care au o contribuție semnificativă în depresia consangvinizată.

5. Parametrul statistic nou de *heterozis normalizat* care permite interpretarea genetică a datelor obținute cu privire la manifestarea heterozisului la un grup de genotipuri.

6. *Cis*-efectul homozigoției asupra recombinării în segmentele marcate adiacente ale genomului porumbului care contribuie la dublarea frecvenței de *crossing-over*-ului.

7. Schema de selecție suplimentată-restaurată la plantele dublu haploide, orientată spre combinarea maximă într-o linie consangvinizată a alelelor favorabile responsabile de heterozis, a cărei aplicare practică a condus la crearea în cel de-al treilea ciclu de selecție a unei linii consangvinizate, care este cu 30% mai productivă decât cea mai bună formă parentală.

CONȚINUTUL TEZEI

INTRODUCERE. Este prezentată caracteristica succintă a lucrării, inclusiv actualitatea și importanța temei abordate, scopul și obiectivele cercetărilor, ipoteza de cercetare, sinteza metodologiei și sumarul capitolelor tezei.

1. GENETICA HETEROZISULUI ȘI OPORTUNITATEA SELECȚIEI DIHAPLOIDE

Au fost analizate metodele și oportunitățile geneticii biometrice. Sunt prezentate: 1) sinteza conceptelor moderne ale naturii genetice a heterozisului și posibilitatea fixării acestuia, 2) principalele concepte ale heterozisului și concordanța lor cu datele experimentale; 3) metodele de obținere a liniilor dihaploide și de aplicare a acestora în ameliorarea plantelor; 4) insuficiența cercetărilor cu privire la natura genetică a heterozisului, lipsa metodelor eficiente de fixare a acestuia și informațiilor despre potențialul selectiv al dihaploizilor, toate acestea fiind un reper pentru definirea scopului studiului – identificarea elementelor de bază ale organizării genetice a heterozisului la porumb pentru optimizarea procesului de selectare a plantelor dihaploide, orientat spre crearea liniilor consangvinizate cu productivitate înaltă.

2. MATERIALE ȘI METODE

Liniile dihaploide au fost produse în baza combinațiilor hibride biparentale hibride de porumb Rf7×Ku123 și MK01×A619. Formele parentale sunt linii cu maturizare medie și semitardive. Părinții primului hibrid sunt linii semidentiforme, iar la al doilea hibrid sunt dentiforme. Liniile Rf7 și MK01 se disting printr-o productivitate bună, Ku123 – prin rezistență la secetă. Productivitatea hibridului MK01×A619 este de 80-100 q/ha în anii favorabili. Hibridul Rf7×Ku123 are productivitatea mai mică – 60-80 q/ha, dar a fost inclus în cercetare datorită eficienței ridicate de dublare a numărului de cromozomi.

Haploizii au fost obținuți prin polenizarea formelor materne cu polenul inductorului haploid, în urma căruia o parte a boabelor pe știulete se dezvoltă cu endosperm triploid și embrion haploid purtând doar gene materne. Au fost folosiți inductorii MHI și LHI creați la Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, care formează boabe haploide la nivel de 5-6% [37] și 10-15% [25], și posedă sistemul de marker *CRnj*, care permite identificarea haploizilor datorită scutelumului necolorat.

Din boabe cu embrion haploid, s-au obținut plante haploide, ale căror genom a fost apoi dublat. S-a folosit preponderent metoda Deimling [6]: vârfurile plantulelor cu lungimea de 3-4 cm au fost ciupite, iar plantulele – scufundate timp de 12 ore în soluție de colchicină 0,06%, suplimentată cu 0,5% DMSO, după care au fost clătite și transplantate în condiții de câmp. De

asemenea, a fost utilizată o metodă fără transplantare, prin tratarea directă în câmp: soluția de colchicină cu concentrația de 0,03-0,12% a fost administrată cu ajutorul unui fir de ață printr-o găurică mică care trece prin zona de creștere. Dublarea spontană a numărului de cromozomi a fost, de asemenea, utilizată în cazul frecvenței acesteia a fost mare. Plantele tratate au fost apoi polenizate artificial, familia de boabe dintr-un știulete fiind reprodusă în sezonul următor ceea ce a făcut posibilă obținerea unei linii dihaploide (DH), genetic omogenă.

Cele mai practice au fost metoda Deimling și, în unele cazuri, dublarea spontană. Linia Rf7 a demonstrat o capacitate sporită de dublare spontană a haploizilor (6-7%), determinată în baza raportului dintre numărul știuleților cu boabe și numărul plantelor haploide apărute. Această însușire este moștenită la hibridii obținuți cu participarea Rf7. La hibridul Rf7×Ku123 s-a constatat o frecvență de dublare spontană deosebit de înaltă (12-16%). La populațiile a căror pondere a genomului Rf7 a depășit mai mult de jumătate, frecvența dublării spontane a constituit circa 21-22% [19]. Deși dublarea cromozomilor cu colchicină în conformitate cu metoda Deimling asigură o frecvență mult mai înaltă, dublarea spontană suportă mai puține cheltuieli și permite pentru aceste genotipuri să se obțină același rezultat, dar cu consum majorat de semințe și poate fi recomandat în cazurile în care factorul limitativ nu este numărul de semințe haploide, dar costurile forței de muncă.

În primul ciclu de selecție, liniile DH au derivat din hibridi F₁ (liniile din primul ciclu din combinația hibridă MK01×A619 au fost obținute și oferite cu amabilitate de doctorul habilitat S.T. Cealîk). Următoarea generație de linii DH (al doilea ciclu) a fost selectată din genotipurile DH×P₁, DH×P₂ sau DH×F₁, unde simbolul DH semnifică una dintre liniile DH obținute în primul ciclu. Al doilea ciclu a fost realizat în diferite variante, rezultând diferite serii (seturi) de linii DH. Al treilea ciclu a fost realizat în mod similar, folosind liniile DH obținute în al doilea ciclu. Ordinea obținerii ciclurilor și seturilor este prezentată în Fig. 1.

Liniile dihaploide au fost testate pe loturile experimentale ale Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor în perioada 2003-2019. Plantele au fost cultivate în condiții fără irigare, câte 2, 3 sau 4 plante/m², densitatea cărora s-a determinat în funcție de sol și de condițiile climatice. Pe parcursul anilor experiențele au fost montate în 2-3 repetiții, fiecare repetiție reprezenta un bloc cu variante plasate în mod randomizat cu 5-9 plante pe parcelă (Tab. 1). Genotipurile de control au fost plasate printre variantele testate într-un număr dublu de repetiții (2 parcele de bloc).

Studiile genetice au fost efectuate conform schemei NC-3, în care au fost testate *testcross*-urile liniilor DH cu formele parentale: DH×Rf7 și DH×Ku123 pentru liniile derivate din combinațiile hibride Rf7×Ku123; DH×MK01 și DH×A619 pentru liniile din combinația

hibridă MK01×A619. Testcross-urile și liniile DH au fost testate separat, pe diferite terenuri experimentale. Condițiile de testare au fost aceleași ca și pentru liniile dublu haploide (Tab. 1).

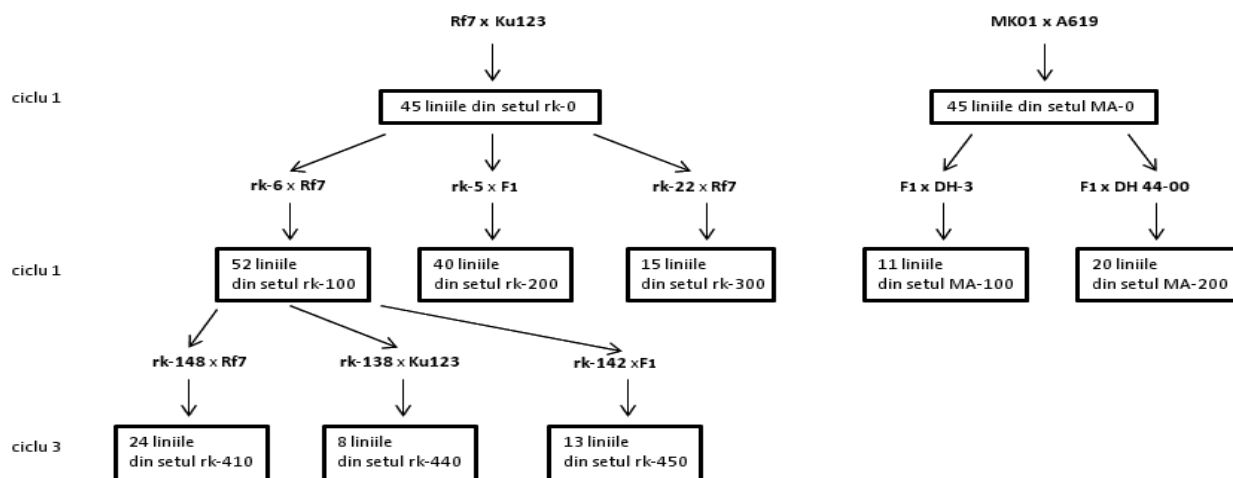


Fig. 1. Schema de origine a liniilor dihaploide

rk-6, rk-5, rk-22, rk-148, rk-138, rk-142, DH-3, DH 44-00 – liniile dihaploide, selectate în seturi respective; F₁ reprezintă Rf7×Ku123 în partea stângă a schemei și MK01×A619 – în dreapta.

Tabelul 1. Organizarea testărilor în condiții de câmp în 2003-2019

Anul	2003	2004	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2017	2019
Densitatea, pl./m ²	4	4	4	4	4	2	4	3	3	3	3
Numarul de repetiții	2	2	2	2	3	2	2	3	2	3	3
Numarul de plante în repetiție	8	8	8	8	8	6	9	5	6	5	6

La liniile DH, testcross-uri și formele martor au fost efectuate măsurări biometrice, fiind înregistrate **fazele fenologice de dezvoltare**: de la însămânțare până la înflorire panicului, de la însămânțare până la înflorirea știuletelui, de la înflorirea panicului până la înflorirea știuletelui (intervalul înfloririi), de la însămânțare până la maturitate, de la înflorirea știuletelui până la maturitate; **caracterele dimensiunii plantelor**: înălțimea plantei, lungimea tulpinii, lungimea panicului, diametrul tulpinii la internodul inferior și **caracterele primului știulete uscat (umiditatea 10%)**: randamentul numărului de boabe, lungimea, diametrul maxim, numărul de rânduri de boabe, masa coceanului, masa boabelor. În unii ani, de asemenea s-a înregistrat masa boabelor la știuleții inferiori și s-a calculat productivitatea totală. Toate caracterele au fost stabilite individual pentru fiecare plantă.

Pentru a cuantifica varianța în componente genotipice și de mediu, analiza varianței a fost efectuată conform schemei ierarhice [42]. Calculul parametrilor genetici s-a efectuat în baza valorilor medii finale și ale varianței obținute după ajustarea efectelor asupra mediului. În schema NC-3, suma efectelor dominante Σd , suma efectelor aditive cu semne opuse Σda și semnificația interacțiunilor non-alelice au fost evaluate prin aplicarea testului unificat Cavalli [31]. Sumele pătratice Σd^2 și Σa^2 , gradul mediu al dominanței, numărul locilor și *linkage*-ul mediu au fost estimate prin propriile

metode [39].

Estimările genetice obținute în schema NC-3 au fost comparate cu aprecierile multiple ale hibrizilor și liniilor parentale în anii 1990-1994. În anul 1990 au fost testate liniile Rf7, 23-57V, 23-245/77B, 23-78V, MK01, MK109, W64, W64ZT, P346, P092, P502 și 38 hibrizi din generația F_1 (exclusiv reciproci - 28) obținuți din aceste linii prin metoda dialelă incompletă. În anul 1994, acest material a fost testat într-un volum redus – 8 linii și 10 hibrizi. *Design*-ul experimental a fost același ca și pentru liniile DH din anii 2003-2004 (Tab. 1).

În experiențele privind studiul recombinăției, în calitate de sursă a genelor mutante a servit o linie marcată multiplă 2-9m, care are următoarele mutații (în paranteze se indică numărul cromozomului și localizarea în cM conform mapei *Genetic* din *Maize genetics and genomics database* [19]):

- p1* (1-70) – coceanul alb;
- ws3* (2-2) – teacă frunzoasă albă;
- lg1* (2-13) – frunză aligulată;
- gl2* (2-31) – plantule lucioase;
- y1* (6-30) – endosperm alb;
- c1* (9-16) – aleuronă incoloră;
- sh1* (9-20) – endosperm șiștăvitt;
- wx1* (9-48) – endosperm ceros;
- R1* (10-95) – aleuronă colorată (alelă dominantă).

Frecvența de recombinare a fost evaluată la hibrizii Ku123×2-9m, MK01×2-9m, Rf7×2-9m, A619×2-9m, în generația F_2 (Ku123×2-9m) și la hibrizii cu participarea liniilor izogene. Liniile izogene au fost create prin transferul genelor particulare de la 2-9 m pe fondalul genetic al liniilor Ku123 și MK01 prin metoda de retroîncrucișare timp de 5-7 generații. Caracterele *ws3*, *lg1*, *gl2* au fost determinate în baza plantulelor cultivate în laborator, celelate – a boabelor uscate.

3. ESTIMĂRI NEDEPLASATE ALE PARAMETRILOR GENETICI PĂTRATI LA PORUMB

3.1. Evaluarea gradului mediu de dominare

Parametrul principal care caracterizează natura genetică a heterozisului – gradul mediu de dominare, este definit ca raportul dintre suma efectelor dominante ale tuturor locilor activi și suma efectelor aditive $\alpha = \Sigma d / \Sigma a$. Datorită imposibilității de a estima Σa prin metode biometrice, în loc de estimare liniară α , se folosește estimarea pătratică $\beta = \sqrt{\Sigma d^2 / \Sigma a^2}$.

Parametrul β este apreciat ca cel mai exact în schema experimentală NC-3: sunt analizate încrucișările $L_i \times P_1$ și $L_i \times P_2$, unde L_i reprezintă componentele populației segregante L , derivate din hibridul simplu $F_1 = P_1 \times P_2$. Pentru fiecare L_i , sunt calculate $SUM_i = L_i \times P_1 + L_i \times P_2$ și $DIF_i = L_i \times P_1 - L_i \times P_2$ (valoarea medie a caracterului este notată cu simbolul însuși a genotipului). În baza varianțelor SUM și DIF au fost apreciate sumele pătratelor efectelor aditive și dominante:

$$\sum d^2 = k \sigma^2(DIF), \sum a^2 = k \sigma^2(SUM),$$

iar gradul mediu de dominare s-a calculat prin formula Comstock-Robinson [6]:

$$D^* = \sqrt{\frac{\sigma^2(DIF)}{\sigma^2(SUM)}}. \quad (1)$$

Parametrul k depinde de tipul populației: $k = 2$ pentru F_2 , $k = 4/3$ pentru F_3 , $k = 1$ pentru un set de dihaploizi sau linii consangvinizate recombinante. Se presupune că varianța mediului a fost deja omisă din varianța generală. Formulele sunt aplicabile oricărei populații biparentale în care se respectă simetria frecvenței, adică pentru orice locus A , frecvențele claselor AA și aa sunt aceleași.

Această estimare este valabilă doar în absența *linkage*-ului, dar deoarece *linkage*-ul de regulă există, datele obținute conform autorului Comstock-Robinson (1952) sunt majorate și au doar importanță comparativă. Cu toate acestea, modelul este folosit până în prezent, deoarece caracterizează toți locii, sumar și nu doar pe cei majori, similar analizei QTL [9, 14]. Supraestimarea poate fi redusă prin aplicarea modelului Comstock-Robinson la o populație care a suportat câteva generații de consangvinizare. În acest caz, deplasarea nu este complet eliminată, totodată metoda necesită mulți ani de experimentări laborioase, motiv pentru care ele rămân unice [11, 22]. În această lucrare, au fost elaborate următoarele formule de calcul pentru estimările nedeplasate ale parametrilor pătratici, în care efectul de *linkage*-ul este eliminat [39]:

$$\sum a^2 = \frac{k\sigma^2(SUM) - \bar{\rho}(\sum \delta a)^2}{1 - \bar{\rho}} \quad (2.1)$$

$$\sum d^2 = \frac{k\sigma^2(DIF) - \bar{\rho}(\sum d)^2}{1 - \bar{\rho}} \quad (2.2)$$

$$\sum (d - \delta a)^2 = \frac{4k\sigma^2(LxP_1) - \bar{\rho}(\sum d - \sum \delta a)^2}{1 - \bar{\rho}} \quad (2.3)$$

$$\sum (d + \delta a)^2 = \frac{4k\sigma^2(LxP_2) - \bar{\rho}(\sum d + \sum \delta a)^2}{1 - \bar{\rho}}. \quad (2.4)$$

În formulele menționate, a și d sunt, respectiv, efecte aditive și dominante ale locilor prin care diferă părinții P_1 și P_2 , parametrul discret δ caracterizează genotipul părinților în baza locusului i : $\delta = 1$, dacă acest locus este reprezentat de plus-alelă (crește valoarea caracterului) în P_1 și minus-alelă (micșorează valoarea caracterului) în P_2 și $\delta = -1$ în caz opus. Sumele liniare

$\Sigma\delta a$ și Σd sunt calculate prin genotipurile de control, cum ar fi P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 , BC_2 . În cel mai simplu caz, $\Sigma\delta a = (P_1 - P_2)/2$, $\Sigma d = F_1 - (P_1 + P_2)/2$ [31]. În definitiv, ρ este caracteristica *linkage*-ului egal cu $1-2r$ (r este frecvența de recombinare între doi loci), iar $\bar{\rho}$ este valoarea sa medie pentru toate perechile de loci prin care diferă P_1 și P_2 . Dacă nu există o estimare directă pentru $\bar{\rho}$, se poate introduce în formule cea mai probabilă valoare a acestui parametru, previzibilă în cazul distribuției aleatorii a locilor activi în genom. Valoarea medie așteptată a indicelui $\bar{\rho}$ trebuie să fie calculată în funcție de specie. În cazul porumbului s-au stabilit următoarele valori: $\bar{\rho} = 0,0543$ pentru haploizii matroclinici dublați, $\bar{\rho} = 0,0437$ – haploizii androclinici dublați, $\bar{\rho} = 0,0366$ – liniile consangvinizate recombinate, $\bar{\rho} = 0,0485$ – F_2 . Folosind datele Σd^2 și Σa^2 , obținem formula pentru estimarea nedeplasată a gradului mediu de dominare:

$$\beta = \sqrt{\frac{\sigma^2(SUM) - \bar{\rho}(\Sigma\delta a)^2}{\sigma^2(DIF) - \bar{\rho}(\Sigma d)^2}}. \quad (3)$$

Verificarea simulată, în care au fost generate diferite variante de amplasare a locilor în genom, a demonstrat că estimarea conform formulei (3) este într-adevăr nedeplasată. Spre deosebire de estimarea Comstock-Robinson, care arată o majorare constantă, formula (3) oferă valori atât majorate cât și diminuate, cu frecvență egală. În cadrul unei singure experiențe, estimarea prin formula (3) nu este fiabilă deoarece are o dispersare mare, dar poate fi aplicată pentru o serie de experimente efectuate pe diverse materiale. Valoarea medie calculată în baza diferitelor experiențe ar trebui să reflecte în mod adecvat gradul mediu tipic de dominare pentru un anumit caracter și specie.

3.2. Cazuri speciale de calcul al gradului de dominare

Un caz special a fost prezentat de populațiile ciclului doi – rk-100 și rk-200, obținute din genotipurile $Rf7 \times rk-6$ și $F_1 \times rk-5$ care au fost, de asemenea, analizate conform schemei NC-3. În primul caz, estimările se referă nu la toți locii prin care se deosebesc P_1 și P_2 (adică $Rf7$ și $Ku123$), ci la un număr mai mic – la locii care disting P_1 ($Rf7$) și linia precursorului rk-6. În al 2-lea caz, sumele pătratelor sunt calculate aplicând alte formule, deoarece această generație a trecut prin două meioze [32, 36]:

$$\Sigma x^2 = \frac{4\sigma^2 - (\bar{\rho} + 2\bar{\rho}^2)(\Sigma x)^2}{3 - \bar{\rho} - 2\bar{\rho}^2}, \quad (4)$$

unde x este una dintre următoarele valori: δa , d , $d + \delta a$, $d - \delta a$. Varianțele σ^2 se referă la SUM , DIF , $DH \times P_1$, $DH \times P_2$ și $DH \times P_2$, respectiv. Valoarea $\bar{\rho}^2$ se evaluează separat, deoarece nu este egală cu $\bar{\rho}$ pătrat. Pentru haploizii matroclinici dubli, s-a calculat $\bar{\rho}^2 = 0,0358$.

3.3. Estimarea numărului de factori genetici

Estimările pătratică ale unei valori x pot fi folosite pentru stabilirea numărului locilor care afectează valoarea unui caracter conform formulei:

$$\langle n \rangle = \sum x^2 / (\sum x)^2, \quad (5)$$

dacă valorile x sunt pozitive sau cu preponderență pozitive, se poate admite $\sum x \approx \sum |x|$. În cazul egalității tuturor x , această estimare este egală cu numărul termenilor din sumă, iar în cazul inegalității poate fi interpretat ca numărul de termeni principali care aduc contribuția principală la sumă. O astfel de estimare este practic mai utilă decât numărul exact al tuturor termenilor, în special în cazurile în care câteva componente principale furnizează partea principală a sumei, iar remanentele sunt dispersate pe mai mulți loci minori. O astfel de evaluare oferă un criteriu obiectiv pentru separarea principalelor componente ale sumei de cele secundare. În lucrarea noastră anterioară, a fost numită măsura de poligenie [39], aici o vom numi *numărul locilor principali*.

În cazul unui heterozis distinct ($F_1 \gg MP$), unde MP este valoarea parentală medie), se poate presupune că există în principal dominare unidirecționată și admite $\sum |d| \approx \sum d$. Substituind x cu d în formula (5), obținem numărul de loci care prezintă aportul principal în suma efectelor dominante [39]:

$$\langle n_d \rangle = \frac{(1-\bar{p})(\sum d)^2}{k\sigma^2(DIF) - \bar{p}(\sum d)^2}. \quad (6)$$

Dacă gradul mediu de dominare este apropiat de 1, atunci contribuția principală la $\sum(d+\delta a)$ și $\sum(d-\delta a)$ va reveni locilor reprezentați de plus-alelele din părinții P_1 și respectiv P_2 . Apoi, cu substituția $x=d+\delta a$ și $x=d-\delta a$, formula (5) va stabili numărul de plus-alele principale din P_1 și P_2 :

$$\langle n_1 \rangle = \frac{(1-\bar{p})(\sum(d+\delta a))^2}{k\sigma^2(F_1-P_2) - \bar{p}(\sum(d+\delta a))^2}, \langle n_2 \rangle = \frac{(1-\bar{p})(\sum(d-\delta a))^2}{k\sigma^2(F_1-P_1) - \bar{p}(\sum(d-\delta a))^2}. \quad (7)$$

În caz de dominare incompletă, pentru $\beta \geq 0,7$ se pot folosi formule aproximative:

$$\langle n_1 \rangle \approx \frac{n'_1}{\left(1 - \frac{1-\beta}{1+\beta} \frac{\sum d - \beta \sum \delta a}{\sum d + \beta \sum \delta a}\right)^2}, \langle n_2 \rangle \approx \frac{n'_2}{\left(1 - \frac{1-\beta}{1+\beta} \frac{\sum d + \beta \sum \delta a}{\sum d - \beta \sum \delta a}\right)^2} \quad (8)$$

unde n'_1 și n'_2 sunt valori primare calculate prin formulele (7). Anterior, numărul locilor activi din schema NC-3 nu era estimat, acesta fiind apreciat doar în generațiile F_2 și BC prin parametrul δa [28], deși acest parametru este mai puțin oportun decât d , $d-\delta a$ și $d + \delta a$, deoarece rareori este unidirecționat.

3.4. Evaluarea experimentală a gradului de dominare

Pentru 15 caractere examinate în 8 experiențe, au fost calculate estimările deplasate ale gradului mediu de dominare conform Comstock-Robinson și estimările nedeplasate conform

formulei (3) (Tabelele 2-3). Analiza exclude randamentul boabelor și productivitatea celui de-al doilea știulete, deoarece distribuția acestor caractere este asimetrică și diferă semnificativ de cea normală. Pentru productivitate (atât totală, cât și a primului știulete), estimările nedeplasate sunt de obicei mai mari decât unu, dar această depășire dispare aproape întotdeauna după admiterea *linkage*-ului. Aceasta înseamnă că heterozisul este cel mai probabil determinat de interacțiunile dominante (inclusiv cele de dominare incompletă) decât de cele supradominante [36, 39].

Tabelul 2. Estimări ale gradului mediu de dominare D^* conform Comstock-Robinson

Caracter	rk-0			rk-100	rk-200		Medie în Rf7× Ku123	MA-0		Medie în MK01× A619
	2011	2014	2016	2013	2015	2016		2010	2013	
Data înfloririi panicului	0,60	0,50	0,48	0,65	0,52	0,54	0,55	0,94	1,05	1,00
Data înfloririi știuletelui	0,69	0,52	0,42	0,33	0,52	0,52	0,50	1,05	1,46	1,26
Diferența panicul-știulete	0,61	0,37	0,48	0,55	0,32	0,43	0,46	0,49	0,75	0,62
Intervalul înflorire-maturitate	0,78	-	0,84	0,61	0,57	0,74	0,71	0,69	1,16	0,93
Data maturității	0,56	-	0,53	0,46	0,28	0,52	0,47	0,50	0	0,25
Înălțimea plantei	0,71	1,18	1,28	0,70	0,43	0,58	0,81	0,65	0,64	0,65
Lungimea tulpinii	0,63	1,16	1,26	0,69	0,40	0,56	0,78	0,59	0,58	0,59
Lungimea panicului	0,85	0,51	0,67	0,83	0,52	0,49	0,65	0,79	1,02	0,91
Diametrul tulpinii	0,37	0,84	0,76	0,39	0,38	0,40	0,52	0,53	0,52	0,53
Lungimea știuletelui	1,45	0,89	1,43	0,83	1,15	1,04	1,13	1,04	0,92	0,98
Diametrul știuletelui	0,61	0,72	0,84	0,56	0,49	0,25	0,58	0,94	0,85	0,90
Numărul de rânduri de boabe	0,52	0	0,55	0,42	0,47	0,41	0,40	0,37	0,55	0,46
Masa coceanului	0,67	0,72	0,56	0,46	0,70	0,55	0,61	0,49	0,77	0,63
Productivitatea primului știulete	1,61	1,11	1,12	0,94	1,07	0,64	1,08	1,32	1,26	1,29
Productivitatea totală	-	1,07	1,65	-	1,14	0,88	1,19	-	-	-

Pentru combinația hibridă Rf7×Ku123, analiza bifactorială a varianței a identificat diferențe semnificative pentru valoarea β între diferite caractere ($F=3,23^{***}$), dar nu a constatat un efect semnificativ al influenței anului și interacțiunilor *caracter* × *an*. Rezultatele analizei au demonstrat sensibilitatea sumei pătratelor a efectelor de dominanță și aditive la condițiile anului, dar raportul lor $\Sigma d^2 / \Sigma a^2 = \beta^2$ s-a dovedit a fi mai stabil și pentru aceasta nu există o altă sursă de variație în afară de variabilitatea aleatorie. Rezultatele indică faptul că la porumb, dominarea este principalul factor de heterozis pentru toate caracterele aflate în studiu, indiferent de condițiile anului, care au variat destul de mult în experiențele noastre.

Estimarea nedeplasată a coeficientului β pentru productivitatea totală, medie pentru toate experiențele, este de $0,78 \pm 0,13$, iar pentru productivitatea primului știulete – $0,65 \pm 0,08$. Prima valoare este mai puțin fiabilă, deoarece al doilea știulete nu a fost luat în considerare în toate experiențele. O estimare mai fiabilă este pentru productivitatea primului știulete care, în plus, în cazul nostru a determinat productivitatea totală cu o medie de 90%. Valoarea pentru productivitatea

primului știulete este mai mică decât 1 cu o semnificație bună și cu o marjă mare, ceea ce face ca concluzia generală să fie insensibilă la erori la estimarea *linkage*-ului mediu $\bar{\rho}$. Concluzia despre dominare ca principala cauză a heterozisului va rămâne valabilă chiar dacă adevăratul $\bar{\rho}$ se dovedește a fi de trei ori mai mic decât valoarea 0,054 estimată.

Tabelul 3. Estimări ale gradului mediu de dominare β , corectate pentru *linkage*

Caracter	rk-0			rk-100	rk-200		Medie în Rf7 ×Ku123	MA-0		Medie în MK01 ×A619
	2011	2014	2016	2013	2015	2016		2010	2013	
Data înfloririi panicului	0,45	0,35*	0,27*	0,41	0,45	0,43*	0,39	0,79*	0,90	0,85
Data înfloririi știuletelui	0,55	0,37	0,27*	0*	0,47	0,44*	0,35	0,84	1,08	0,96
Diferența panicul-știulete	0,61	0,30	0,46*	0,54	0,31	0,42*	0,44	0,44*	0*	0,22
Intervalul înflorire-maturitate	0,51	-	0,72*	0,32*	0,36	0,63*	0,51	0,42	0,70	0,56
Data maturității	0,49	-	0,52*	0,46*	0,26*	0,52*	0,45	0,50	0*	0,25
Înălțimea plantei	0,40	0,66	0,71	0,40	0	0	0,36	0,31	0,36	0,34
Lungimea tulpinii	0,40	0,78	0,79	0,46	0,04	0,17	0,44	0,32	0,36	0,34
Lungimea panicului	0	0	0,39	0,43	0	0,32	0,19	0,43	0,49	0,46
Diametrul tulpinii	0,28	0,62	0,81	0,33	0,33	0,38	0,46	0,38	0,33	0,36
Lungimea știuletelui	1,13	0,48	0,49	0,46	1,02	0,74	0,72	0,77	0,65	0,71
Diametrul știuletelui	0,34	0,08*	0,55	0,16	0,18	0	0,22	0*	0,72*	0,36
Numărul rândurilor de boabe	0,63	0	0,80	0,42	0,47	0,43	0,46	0,34*	0,54	0,44
Masa coceanului	0,47	0	0,26*	0,18	0,25	0*	0,19	0,25	0,48	0,37
Productivitatea primului știulete	0,99	0,53	0,60	0,43	0,82	0,36	0,62	0,64	0,85	0,75
Productivitatea totală	-	0,64	1,11	-	0,86	0,52	0,78	-	-	-

Notă. * Proporția interacțiunilor non-alelice este mai mare de 5%

Dominarea este aproximativ de același grad și pentru lungimea știuletelui, iar la combinația hibridă MK01×A619 – pentru timpul de înflorire (domină înflorirea timpurie – hibridul înfloarește mai devreme decât genitorii).

Gradul mediu de dominare este destul de ridicat pentru intervalul *înflorire-maturitate*. Astfel, principala componentă a productivității este lungimea știuletelui: heterozisul este în mod decisiv dependent de genele care controlează lungimea știuletelui. A doua componentă după importanță este perioada de maturizare în timpul căreia știuletele acumulează biomasă. În ceea ce privește gradul ridicat de dominare pentru timpul de înflorire în combinația hibridă MK01×A619, aceasta ar trebui considerată o particularitate specială a acestei combinații hibride. Pentru alte caractere, dominarea este mai puțin pronunțată. Pentru unele dintre ele, luarea în calcul a posibilului *linkage* diminuează estimarea nesemnificativ, iar uneori conduce chiar la o

creștere, ceea ce poate fi explicat doar prin dominanța bidirecțională.

Estimările nedeplasate au fost calculate și în baza altor surse. Au fost găsite două lucrări în care analiza genetică a caracterelor de porumb a fost efectuată conform schemei NC-3 și unde au fost prezentate date privind formele martor [9, 14]. Au fost analizați hibrizii de porumb B73×H99, F2×Io, F2×F252 și F252×Io. Estimările autorului cu privire la gradul mediu de dominare pentru productivitate conform Comstock-Robinson au fost de 1,18, 1,95, 1,31 și 1,57, respectiv. După recalcularea prin metoda utilizată în investigații, acestea au scăzut până la 0,65, 0,64, 0,80 și 0,87. Astfel, la 6 hibrizi, inclusiv cei studiați în experiențe, estimările nedeplasate pentru productivitate variază de la 0,64 la 0,87, cu o valoare tipică de aproximativ 0,7. Anterior, teoria dominanței a fost confirmată pentru 4 hibrizi în experiențele lui Moll-Robinson și Gardner-Lonnquist [11, 22], în care efectul *linkage*-ului a fost luat în considerare într-un mod diferit. Analiza efectuată a condus la apariția a încă 6 estimări: 2 estimări pentru hibrizii Rf7×Ku123 și MK01×A619 și 4 estimări realizate conform datelor din literatură. Ca urmare, numărul evaluărilor care susțin teoria dominanței pentru porumb a crescut de la 4 la 10, fără nici o apreciere de caracter opus. Rezultatul mărește semnificativ validitatea statistică a teoriei dominanței, care în prezent nu este unanim recunoscută.

3.5. Analiza interacțiunilor non-alelice

Estimările gradului mediu de dominare, deplasat, cât și nedeplasat, admite că nu există interacțiuni non-alelice, altfel sumele pătratice calculate vor include o componentă non-alelică. Prin urmare, interacțiunile non-alelice au fost apreciate folosind testul Cavalli (Tabelul 4). Au fost identificate 60 de efecte semnificative din 141 posibile. Aproape toate sunt reale, deoarece o variație aleatorie poate reprezenta doar 7-8 dintre ele. Efectele non-alelice sunt extrem de neregulate și slab reproduse de-a lungul anilor, prin urmare sunt mai slabe decât interacțiunea *genotip* × *an*. Diferite caractere sunt predispuse să manifeste diferit grad de interacțiuni non-alelice. Interacțiunile non-alelice pentru caracterele de productivitate sunt foarte slabe. În cele mai multe cazuri acestea sunt nesemnificative și chiar dacă sunt semnificative, ponderea lor de influență nu depășește 2%. Pentru alte caractere ale știulețului, interacțiunile non-alelice sunt mai frecvente - în aproximativ jumătate din cazuri, iar ponderea de influență poate ajunge la 18%. Pentru indicii care caracterizează dimensiunile plantelor (lungimea și diametrul tulpinii, lungimea paniculului, înălțimea plantei), interacțiunile non-alelice se manifestă slab, deși mai evidente decât pentru productivitate: sunt semnificative în 1/3 din cazuri, iar ponderea influenței nu depășește 5%. Efectele maxime non-alelice sunt asociate cu fazele fenologice, dar sunt instabile și depind puternic de condițiile anului [36].

Comparația rezultatelor factologice cu datele din literatură de specialitate a demonstrat că

În materialul studiat interacțiunile non-alelice se manifestă într-un mod tipic pentru porumb. Pentru productivitatea porumbului, au fost rareori observate interacțiuni non-alelice, mai frecvent acestea fiind înregistrate pentru alte caractere. Instabilitatea interacțiunilor non-alelice, neregularitatea manifestării pe ani și repetiții sunt, de asemenea, caracteristice porumbului [12, 13, 18]. În cazul nostru, este important să elucidăm modul în care interacțiunile non-alelice pot afecta estimările gradului de dominare. Acestea nu pot afecta semnificativ aprecierile pentru productivitate datorită valorii lor mici. Pentru restul caracterelor, au fost comparate estimările gradului mediu de dominare, care au fost însoțite atât de interacțiuni non-alelice semnificative, cât și de cele nesemnificative.

Tabelul 4. Rata interacțiunilor non-alelice (%) în variabilitatea genetică a diferitelor caractere la porumb

Caracter	Rf7×Ku123							MK01×A619		
	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2009	2010	2013
Data înfloririi panicului				3,7*	6,7*		10,9**	4,6**	12,5***	
Data înfloririi știulețului				7,1*			14,3**		4,1***	3,4***
Diferența panicul-știulete				1,6*			18,0*		14,3*	14,9***
Intervalul înflorire-maturitate				6,8***	-	1,4*	8,2*		1,2*	1,9**
Data maturității				58,0***	-	10,7*	29,3***			18,0***
Înălțimea plantei			1,4**			4,6***			1,2**	3,4***
Lungimea tulpinii			2,0**			4,9***			1,8***	4,4***
Lungimea panicului				1,1*		1,4**	1,0***		1,7*	2,0**
Diametrul tulpinii		1,6**								
Lungimea știulețului	7,4*		0,8*	2,1***		1,8*	3,7**			0,8*
Diametrul știulețului				4,9***	5,1***				9,4***	9,7***
Numărul rândurilor de boabe			1,1**	2,0***	3,7***	3,2***			14,6***	18,4*
Masa coceanului	8,4**						8,9***		1,8*	
Productivitatea primului știulete				0,8*		1,7*			0,8**	0,3*
Productivitatea totală	-	-	-	-		1,1*		-	-	-

Nota 1. Interacțiunile non-alelice sunt semnificative la $P < 0,05^*$, $P < 0,01^{**}$, $P < 0,001^{***}$

Nota 2. Celula goală - zero, cratimă – absența datelor.

Nu au fost depistate diferențe semnificative și dacă excludem din analize cazurile în care interacțiunile non-alelice au fost semnificative (menționate în Tabelul 3), atunci concluziile generale privind gradul mediu de dominare vor rămâne valabile.

3.6. Estimarea experimentală a numărului de factori activi

Pentru caracterele în care media anuală a gradului de dominare depășește 0,7, a fost estimat numărul de loci care controlează partea principală a variabilității genetice pentru

productivitatea totală, productivitatea primului știulete, lungimea știuletelui, iar pentru combinația hibridă MK01×A619 - și perioada de înflorire a paniculelor și știuleților. Conform estimărilor aproximative, productivitatea hibrizilor studiați este controlată de zeci de loci (aproximativ 30-70), pentru lungimea știuletelui, acest număr este mai mic (15-40), iar data de înflorire a paniculelor și a știuleților în combinația hibridă MK01×A619 probabil este sub control oligogen (7-15 loci). Înregistrarea separată a părinților a demonstrat că contribuția acestora în efectul heterozis este aproximativ aceeași [36].

Această concluzie este în concordanță cu datele despre expresia genelor. Hibridul model Mo17×B73 conține 350-700 loci, în care expresia genică este mărită în comparație cu unul dintre părinți, care posibil este responsabilă de heterozis [24]. Mulți din acești loci pot avea un efect cantitativ mic, iar unii din ei afectează și alte caracteristici ale plantelor decât productivitatea. Prin urmare, determinarea catorva zeci de loci actualmente pare posibilă.

De caracterul distribuției efectelor genice depinde cota care prezintă partea principală. Cea mai universală expresie pentru o secvență descrescătoare convergentă este distribuția gamma. Acesta este produsul unei funcții exponențiale și a unei funcții de putere, în cazul general are forma $\gamma(x) = \frac{1}{\beta\Gamma(\alpha)} \cdot \left(\frac{x}{\beta}\right)^{\alpha-1} e^{-\frac{x}{\beta}}$, unde parametrul α este responsabil pentru forma distribuției și β pentru scară. Proporția efectelor care revine primilor $\langle n \rangle$ loci depinde de α . Când α se încadrează în limitele de la 0,5 la 1,5, cele mai mari $\langle n \rangle$ efecte reprezintă 67%-90% din totalul acestora. După analiza datelor din trei surse [9, 10, 14] despre natura descreșterii celor mai evidente 10 efecte dominante, s-a constatat că aceste date sunt aduse la un nivel mediu în mod optim de curbă cu parametrii $\alpha = 1$ și $\beta = 9$, ca rezultat obținându-se o distribuție exponențială $\gamma(x) = \frac{1}{9}e^{-\frac{x}{9}}$ [36].

Numărul locilor principali cu o astfel de distribuție este $\langle n \rangle = 18$, aceștia reprezintă 86% din efectul total. Necoresponderea cu estimarea obținută de 30-70% poate fi explicată prin faptul că în aceste lucrări efectele dominante nu se identifică cu loci individuali, dar cu clastere. Este de menționat că constanta de 86% - suma de $\langle n \rangle$ în baza locilor majori, nu depinde de clasterizarea genelor, ci doar de forma curbei. Dacă secvența descrescătoare este într-adevăr exponențială $\alpha=1$, atunci $\langle n \rangle$ locii majori ar trebui să reprezinte întotdeauna aproximativ 86% din totalul acestora, indiferent de ceea ce este egal cu $\langle n \rangle$ [36].

4. ESTIMAREA PARAMETRILOR GENETICI LINEARI ȘI *LINKAGE*-ULUI MEDIU LA PORUMB

4.1. Comparația estimărilor genetice liniare și pătratice

Estimarea pătratică a gradului mediu de dominare β poate fi semnificativ mai mare decât estimarea liniară a lui α dacă efectele dominante sunt direcționate opus. Estimarea liniară și pătratică sunt determinate de egalitatea $\alpha^2 + \sigma^2(\alpha) = \beta^2$, din care se poate obține o estimare minimă pentru α dacă există o estimare maximă a varianței dintre loci $\sigma^2(\alpha)$. Valoarea maximă a $\sigma^2(\alpha)$ poate fi stabilită din câteva observații cu o valoare mică a parametrului $s = \frac{\Sigma d}{\sqrt{\Sigma d^2}}$, pentru care $\beta^2 \approx \sigma^2(\alpha)$. Pentru 5 astfel de puncte cu $s < 1$ β este 0,42-0,46, adică ușor mai mare de 0,4. Această valoare este considerată ca limită superioară a lui $\sigma(\alpha)$. În cazul acesta, este posibil să se calculeze estimările intervalului pentru gradul mediu liniar de dominare α , coeficientul de unidirecționalitate al efectelor dominante k și numărul locilor responsabili pentru partea principală a efectelor aditive (numărul de loci majori) $\langle n \rangle$:

$$\sqrt{\beta^2 - \sigma_{max}^2} \leq |\alpha| \leq \beta; \sqrt{1 - \frac{\sigma_{max}^2}{\beta^2}} \leq |k| \leq \frac{|\Sigma d|}{\sqrt{\Sigma d^2}}; \frac{(\Sigma d)^2}{\Sigma d^2} \leq \langle n \rangle \leq \frac{(\Sigma d)^2}{\Sigma d^2 - \sigma_{max}^2 \Sigma a^2} \quad [36].$$

Coeficientul de unidirecționalitate este definit ca $k = \Sigma d / \Sigma |d|$, este egal cu 1 atunci când toate efectele sunt pozitive, iar la mod general este egal cu α/β .

Conform aprecierilor intervalice, productivitatea se asociază cu caracterele cu cea mai exprimată dominanță (Tabelul 5). Chiar, dacă pentru productivitate se evaluează gradul mediu de dominare după limita inferioară și pentru alte caractere – în baza limitei superioare, atunci doar 2-3 caractere pot fi atribuite la productivitate. Se disting și alte caractere cu efecte dominante unidirecționale mărite: în ambele combinații, acestea fiind productivitatea, lungimea știuletelui și intervalul *înflorire-maturitate*. În prima combinație fiind de asemenea lungimea panicului, în a doua – diametrul știuletelui și data înfloririi panicului și știuletelui. În ceea ce privește numărul de loci, după datele din tabel, într-un caz tipic, un caracter cantitativ este controlat de câteva zeci de loci: majoritatea estimărilor inferioare este mai mare de 10, iar majoritatea estimărilor superioare – mai mici de 100. În cele din urmă, pentru numărul de rânduri, există motive să admitem controlul oligogen (până la 6 loci). Cu toate acestea, valorile diminuate ale $\langle n \rangle$ ar trebui tratate cu precauție, deoarece acestea se referă la perioada de maturare și numărul de rânduri de boabe, adică la acele caractere în manifestarea cărora este implicată o proporție semnificativă a interacțiunilor non-alelice [36].

Tabelul 5. Intervale admisibile pentru gradul liniar de dominanță α , gradul de unidirecționalitate al efectelor dominante k și numărul locilor majori $\langle n \rangle$

Caracter	Rf7×Ku123 F ₁			MK01×A619 F ₁		
	$ \alpha $	k	$\langle n \rangle$	$ \alpha $	k	$\langle n \rangle$
Data înfloririi panicului	0,13-0,42	0,31-1	13-131	0,75-0,85	0,88-1	7,2-9,2
Data înfloririi știuletelui	0-0,39	0-1	≥ 12	0,86-0,95	0,91-1	12-15
Diferența panicul-știulete	0,12-0,36	0,28-0,86	1-9,6	0-0,32	0-1	≥ 34
Intervalul înflorire-maturitate	0,45-0,60	0,75-1	12-21	0,38-0,55	0,69-1	34-70
Data maturității	0,22-0,46	0,48-1	1,2-5,1	0,12-0,42	0,28-1	1,8-23
Înălțimea plantei	0,03-0,40	0,08-1	49-7200	0-0,34	0-1	≥ 43
Lungimea tulpinii	0,19-0,44	0,42-1	29-161	0-0,34	0-1	≥ 33
Lungimea panicului	0,44-0,60	0,74-1	20-36	0,21-0,45	0,47-1	50-226
Diametrul tulpinii	0,15-0,43	0,36-1	8-63	0-0,35	0-1	≥ 21
Lungimea știuletelui	0,68-0,79	0,86-1	18-25	0,55-0,68	0,81-1	17-25
Diametrul știuletelui	0-0,26	0-1	≥ 64	0,41-0,57	0,72-1	24-47
Numărul rândurilor de boabe	0,21-0,38	0,47-0,83	1-3,2	0,23-0,46	0,5-1	1,5-5,7
Masa coceanului	0-0,30	0-1	≥ 65	0,14-0,42	0,32-1	27-258
Productivitatea primului știulete	0,52-0,66	0,79-1	29-46	0,7-0,81	0,87-1	28-38
Productivitatea totală	0,71-0,82	0,87-1	22-29	-	-	-

4.2. Heterozisul normalizat ca o caracteristică a caracterelor

Pentru analiza genetică pot fi utilizate, de asemenea, date privind compararea în grup a hibridilor și a părinților acestora. Pentru o astfel de comparație, a fost introdusă o valoare, numită **heterozis normalizat** și egală cu $S=D/A$, unde D este heterozisul mediu (depășirea hibridului peste media părinților), A este semidiferența medie dintre părinți, calculată ca rădăcina pătratului mediu [34]. Analiza matematică a arătat că pentru un grup destul de reprezentativ de hibridi obținuți de la părinții utilizați aleatoriu, egalitatea $S = \alpha\sqrt{n}$ este realizată cu precizie, unde α este gradul mediu liniar de dominare a locilor care controlează heterozisul caracterelor aflate în studiu, n este numărul mediu al acestor loci în hibridul individual, care poate fi subestimat datorită *linkage*-ului și egal cu numărul de clustere. Cu toate acestea, genele adiacente nu trebuie să fie distribuite de-a lungul liniilor unei colecții genetice în *linkage*, dacă aceste linii nu sunt descendenți ai aceluiași individ heterozigot. Prin urmare, ar trebui să ne așteptăm ca distorsiunea introdusă de *linkage* să fie mai mică decât în generațiile segregante. Dacă efectul *linkage*-ului este semnificativ, acesta ar trebui să se manifeste printr-o diminuare sistematică a heterozisului normalizat S comparativ cu estimările s din schema NC-3 [38].

În Tabelul 6 sunt comparate valorile s obținute în schema NC-3 și valorile S obținute în analiza a trei grupuri de hibridi. Aceștia sunt 28 hibridi testați în anul 1992, iar 10 hibridi testați în 1994 [38] și 47 hibridi testați de Li *et al.* [15]. Nu s-a constatat o diminuare regulată a heterozisului normalizat S în raport cu s , pentru indicatorii de productivitate există chiar o supraestimare regulată: de la 3,5-4,3 în schema NC-3 la 7,4-8,1 în grupuri. Probabil acest fapt se datorează nerespectării

randomizării la alegerea hibrizilor: hibrizii obținuți de la cei mai buni părinți ar putea fi combinați într-un grup, ceea ce a condus la o subestimare a contrastului liniilor în comparație cu cea statistic așteptată și a supraestimat valorile heterozisului normalizat.

Tabelul 6. Comparația heterozisului normalizat în grupurile de hibrizi și schema NC-3

Caracter	s în schema NC-3		S în grupurile de hibrizi		
	Rf7×Ku123	MK01×A619	1992	1994	Li et al. (2018)
Data înfloririi panicului	-1,51	-2,26	-1,80		-2,27
Data înfloririi știuletelui	-1,38	-3,30	-1,17		-2,63
Diferența panicul-știulete	-0,36	-1,84	0,30		-0,85
Intervalul înflorire-maturitate	2,04	3,22	-0,35		
Data maturității	0,50	0,56	-0,74		
Înălțimea plantei	2,80	2,25	2,31	2,71	5,24
Lungimea tulpinii	2,38	1,98	2,00		
Înălțimea știuletelui superior			2,03		4,29
Lungimea panicului	2,65	3,20	2,16		
Diametrul tulpinii	1,22	1,62			
Lungimea știuletelui	3,38	2,78		3,84	2,61
Diametrul știuletelui	2,11	2,81		2,62	2,94
Numărul de rânduri de boabe	0,38	0,56		1,42	0,68
Masa coceanului	2,41	2,20	2,12	6,35	3,90
Productivitatea primului știulete	3,56	4,32	7,71	7,96	7,46
Productivitatea totală	3,85		7,42	8,11	

4.3. Evaluarea *linkage*-ului mediu dintre locii activi

Aprecierile gradului mediu de dominare al numărului de loci activi și al unidirecționalității efectelor dominante s-au bazat pe valoarea *linkage*-ului mediu $\bar{\rho} = 0,054$, care nu a fost stabilit experimental, dar a fost calculată teoretic pentru o distribuție aleatorie a locilor activi. Pentru a verifica modul în care această supoziție corespunde realității, gama posibilelor valori ρ a fost stabilită conform variațiilor *DIF* în generațiile rk-0 și rk-200 [32].

Echivalând expresiile pentru Σd^2 din formulele 2.2 și 4, obținem după transformări

$$3\sigma_1^2 - 4\sigma_2^2 = \bar{\rho}(2D^2 + \sigma_1^2 - 4\sigma_2^2) - 2\bar{\rho}^2(D^2 - \sigma_1^2),$$

unde σ_1^2 și σ_2^2 sunt varianțele funcției *DIF* în seturile rk-0 și rk-200, $D = \Sigma d$. Deoarece $\bar{\rho}^2 \geq (\bar{\rho})^2$, se poate calcula pentru $\bar{\rho}$ valoarea minimă în cazul $\bar{\rho}^2 = (\bar{\rho})^2$: $\bar{\rho}_{min} = \frac{3\sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}{2D^2 - 2\sigma_1^2}$.

Din formula 2.2 rezultă valoarea maximă $\bar{\rho}_{max} = \frac{\sigma_1^2}{D^2}$.

Eroarea parametrului $\bar{\rho}$ va fi cu atât mai mică, cu cât sunt mai mici varianțele față de D^2 . Prin urmare, pentru a evalua $\bar{\rho}$, au fost selectate 8 caractere cu cele mai mici rapoarte σ_1^2/D^2 și σ_2^2/D^2 . În tabelul 7 sunt prezentate rezultatele finale, concomitent cu valorile intermediare luate în calcul. Pentru fiecare caracter separat, aceste estimări nu sunt fiabile, deoarece ele se bazează pe diferența

de varianță, deci rezultatele nu constituie o medie. Scorul final de la 0,043 la 0,079 caracterizează distribuția medie a locilor care controlează diferite caractere. Această medie fiind parțial justificată de faptul că seturile de loci activi pentru diferite caractere trebuie să se suprapună, deoarece un locus poate influența un șir de caractere. Pe de altă parte, pentru caractere individuale sunt posibile particularități ale distribuției care nu au fost stabilite.

Tabelul 7. Calculul *linkage*-ului mediu prin efecte dominante în 2016

Caracter	σ_1^2	σ_2^2	D	ρ_{min}	ρ_{max}
Diametrul știuletelui, mm	4,90	1,07	7,33	0,106±0,040	0,91±0,024
Masa coceanului, g	23,0	8,73	18,3	0,055±0,032	0,069±0,018
Înălțimea plantei, cm	126,6	47,1	40,6	0,063±0,035	0,077±0,020
Lungimea tulpinii, cm	99,7	39,1	33,7	0,069±0,041	0,088±0,023
Productivitatea primului știulete, g	635,9	387,1	92,6	0,023±0,039	0,074±0,019
Lungimea știuletelui, mm	155,0	156,6	50,5	0,034±0,040	0,061±0,016
Lungimea panicului, cm	3,94	2,60	7,04	0,016±0,043	0,079±0,021
Productivitatea totală, g/plante	1132	588,6	110,5	0,047±0,047	0,093±0,024
Medie				0,043±0,015	0,079±0,004

Valoarea $\bar{\rho} = 0,054$, care a fost folosită în calcule, se încadrează în intervalul de 0,04-0,08, astfel încât presupunerea unei distribuții aleatorii a locilor activi este în concordanță cu datele obținute. Deoarece se cunoaște intervalul în care se regăsește valoarea indicelui $\bar{\rho}$, este posibil calculul limitelor superioare și inferioare pentru estimările realizate ale gradului de dominare. Aceasta însă nu se reflectă asupra interpretării rolului principal al dominanței în efectul heterozis. Concluzia își va pierde valabilitatea doar atunci când $\bar{\rho} < 0,018$, care este mult mai mic decât estimarea minimă [36].

Anterior, în genetica biometrică nu existau metode sigure de apreciere a *linkage*-ului mediu, ci doar metode de testare pentru determinarea impactului semnificativ a *linkage*-ul asupra estimărilor genetice [31]. Din moment ce *linkage*-ul are loc, de obicei și influența lui este semnificativă, valoarea informativă a unor astfel de testări este mică.

4.4. Recombinarea pe fundaluri homozigote

Linkage-ul mediu așteptat $\bar{\rho} = 0,054$ este calculat în baza datelor obținute în urma recombinărilor în condiții de heterozigoție înaltă. În schema de selecție propusă se prevede utilizarea încrucișărilor cu grad diferit de heterozigoție, deci este important să aflăm cum se schimbă frecvența de recombinare în acest caz. Relația dintre frecvența de recombinare (rf) în segmentele genomului marcat cu homo- și heterozigoție a fost stabilită pentru prima dată în generația F_2 (Ku123×2-9m), unde 2-9m este o linie mutantă marcată multiplu [41]. S-a constatat că rf în segmentele marcate depinde de starea alelică a locusului markerului adiacent. Dacă este

heterozigot, atunci rf va avea în medie valoare obișnuită tipică (similar generației F_1) și corespunzătoare distanței de recombinare pe mapele genetice. Dar dacă locusul adiacent este homozigot, indiferent de alela – mutantă sau normală, atunci rf în segmentul marcat crește: în segmentul $ws3-lg1$ de 1,77 ori, în segmentul $c1-sh1$ de 1,58 ori, în segmentul $sh1-wx1$ de 1,28 ori și doar în segmentul $lg1-gl2$ depășirea a fost nesemnificativă – 1,05 ori. Acest efect s-a reprodus timp de doi ani consecutiv.

La plantele incluse în studiu, genotipul din generația F_2 a fost de tip mozaic: parțial heterozigot, parțial homozigot. S-a decis să se verifice în ce măsură creșterea indicelui rf poate atinge homozigoția maximă, atunci când doar segmentul marcat rămâne heterozigot. Pentru aceasta, locii markeri au fost transferați pe fondalul genetic al liniilor Ku123 și MK01 prin retroîncrucișări repetate, ca rezultat fiind obținute 8 linii: $M(lg,gl)_6$, $K(lg,gl)_6$, $M(c,sh,R)_6$, $K(c,sh,R)_7$, $M(R)_7$, $K(R)_7$, $M(sh,wx)_7$, $K(sh,wx)_5$.

Literele inițiale M și K reprezintă MK01 și Ku123, mutațiile transferate sunt indicate între paranteze (fără cifre), indicele numeric semnifică numărul de generații *backcross*. Alela dominantă $R1$, împreună cu alela $c1$, a trebuit să fie transferată, astfel încât culoarea antocianică a boabelor să se manifeste, fiind vizibilă segregarea la $c1$. Nu a fost posibil să se creeze linii care să conțină mutația $ws3$, deoarece atunci când s-a încercat introducerea acestei mutații în MK01 și Ku123, viabilitatea și productivitatea acestora au fost puternic compromise. Frecvența recombinării pe fondalul homozigot a fost observată în anul 2017 la genotipurile $MK01 \times M(lg,gl)_6$, $Ku123 \times K(lg,gl)_6$, $M(R)_7 \times M(c,sh,R)_6$, $K(R)_7 \times K(c,sh,R)_7$, $MK01 \times M(sh,wx)_7$, $Ku123 \times K(sh,wx)_5$. Pentru control, frecvența recombinării a fost determinată pe fondalul heterozigot la genotipurile $Ku123 \times M(lg,gl)_6$, $MK01 \times K(lg,gl)_6$, $K(R)_7 \times M(c,sh,R)_6$, $M(R)_7 \times K(c,sh,R)_7$, $M(sh,wx)_7 \times Ku123$, $MK01 \times K(sh,wx)_5$.

Tabelul 8. Frecvența recombinării pe fondal homo- și heterozigot în 2017

Fondalul genetic	$rf(lg1-gl2)$, %		$rf(c1-sh1)$, %		$rf(sh1-wx1)$, %	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
MK01	27,6±1,4	26,8±1,6	9,8±1,2	10,9±0,9	38,4±0,5	30,2±1,1 ***
Ku123	34,3±0,9	42,4±1,3 **	9,6±0,3	10,1±1,1	36,8±1,3	37,0±1,1
MK01×Ku123(izo)	17,2±0,3	16,7±0,7	5,3±0,2	5,2±0,3	16,9±0,5	15,3±0,6
Ku123×MK01(izo)	19,9±0,9	18,8±0,8	5,8±0,3	5,2±0,3	16,7±0,8	11,2±0,7 **
Valoarea așteptată în baza mapei genetice	15,1	15,1	3,8	3,8	21,4	21,4
Homo-/hetero-	1,67	1,95	1,76	2,01	2,34	2,54

Nota 1. În ultimul rând pentru varianta $sh1-wx1$ ordinul a fost inversat: $MK01(izo) \times Ku123$.

Nota 2. Semnificația diferențelor de sex **P < 0,01, ***P < 0,001.

Frecvența recombinării a fost testată separat în micro- și megasporogeneză, adică în panicule și știuleți; liniile izogene corespunzătoare au folosit ca testere. Rezultatele prezentate

în Tabelul 8 indică faptul că, dacă pe fondalul heterozigot, frecvența recombinării a coincis aproximativ cu cea așteptată conform mapelor genetice, atunci pe fondalul homozigot s-a dublat. Ultimul rând al Tabelului 8 arată raportul dintre rf pe fondalul homozigot (media între MK01 și Ku123) și rf pe fondalul heterozigot (mediu între hibridul direct și reciproc). Raportul homo/heterozigoție a variat de la 1,67 la 2,54, în funcție de segment și sex [36].

Efectul pe fondal homozigot poate extinde variabilitatea disponibilă a recombinării. La porumb, multe gene sunt concentrate în regiunile pericentromerice ale cromozomilor, unde se recombina între ele foarte slab. Acestea pot fi separate în generațiile ulterioare de consangvinizare, atunci când mediul genetic devine în mare parte homozigot. Efectul fondalului homozigot a fost observat de Allard (1963) asupra boabelor de Lima, unde s-au efectuat selectări divergente pentru modificarea rf [1] până în generația F_5 . Selecția în direcția "plus" a condus la o creștere a frecvenței de recombinare în cele trei segmente marcate, în timp ce selecția în direcția "minus" a fost inefficientă. Acest rezultat este bine explicat de efectul de homo- și heterozigoție, deși autorul a avut o altă interpretare.

Conform ipotezei propuse, în zona heterozigotă *crossing-over*-ul este suprimat și cu cât această zonă este mai lungă, cu atât suprimarea este mai puternică în toate segmentele sale constitutive [41]. În ceea ce privește frecvența schimburilor în zonele homozigote, aceasta este constant ridicată și egală cu limita la care tinde rf în zonele heterozigote atunci când acestea sunt reduse. Conform ipotezei lui Ziolkowsky *et al.*, care au observat un efect similar la *Arabidopsis*, la genotipurile mozaice, unde alternează zonele homozigote și heterozigote, există o redistribuire a schimburilor de la zonele homozigote la zonele heterozigote și frecvența totală în genom nu se schimbă [29].

Indiferent de corectitudinea explicației, se poate considera ca și stabilit că la genotipurile mozaice de porumb, unde alternează zonele homo- și heterozigote, rf este mai mare în zonele heterozigote decât în generația F_1 , ceea ce ar trebui luat în considerație la calcularea varianțelor caracterelor cantitative. În cazul nostru, s-a ținut cont de aceasta la calcularea estimărilor pătratice în seturile rk-100 și rk-200, deoarece ele au fost obținute din genotipuri cu heterozigoție redusă. Proporțiile unei creșteri a rf (prin urmare, a unei diminuări a ρ) au fost aproximativ estimate din datele a patru segmente marcate în generațiile F_1 și F_2 ale hibridului Ku123×2-9m. După recalculare, valorile gradului mediu de dominare pentru seturile rk-100 și rk-200 prezentate în Tab. 3 s-au majorat nesemnificativ, în medie cu 0,02, maxim cu 0,07. Valorile recalculate după gradul mediu de dominare sunt mai mici de o unitate, de aceea concluzia despre rolul dominant al interacțiunilor în efectul heterozisului rămân în vigoare [36].

Efectul homo- și heterozigoție nu afectează semnificativ estimarea de interval a *linkage*-

ului mediu. Estimarea superioară va rămâne aceeași, dar se va referi la *linkage*-ul mediu ρ_1 în $F_1(Rf7 \times Ku123)$. Când se calculează limita inferioară, $\bar{\rho}^2$ se înlocuiește cu $\bar{\rho}_1 \cdot \bar{\rho}_2$, unde ρ_2 este *linkage*-ul în $F_1 \times rk-5$ și inegalitatea $\bar{\rho}^2 \geq (\bar{\rho})^2$ este înlocuit de inegalitatea $\bar{\rho}_1 \cdot \bar{\rho}_2 \geq 0$, care va determina obținerea formulei $\bar{\rho}_{1min} = \frac{3\sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}{2D^2 + \sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}$. Calculul în baza noii formule asigură aproximativ același rezultat: $\bar{\rho}_{1min} = 0,040 \pm 0,014$.

5. OPORTUNITĂȚI DE SELECȚIE A PLANTELOR DIHAPLOIDE LA PORUMB

5.1. Schema de selecție suplimentată-restaurată

Din analiza genetică rezultă că selecția plantelor dihaploide ar trebui să fie eficientă pentru crearea liniilor consangvinizate cu productivitate ridicată, deoarece astfel de efecte sunt responsabile de heterozis la porumb, care își poate manifesta efectul și la plantele homozigote. Pentru a fixa la plantele homozigote cât mai multe plus-alele responsabile de heterozis, a fost dezvoltată o schemă de selecție suplimentată-restaurată cu următoarea alternanță de cicluri [35]:

Ciclul 1. Un set de linii DH obținute de la hibridul din generația F_1 , din ele este selectată cea mai performantă după productivitate. Din mai multe linii se poate acumula un număr diferit de alele plus, iar în cea mai bună linie ar trebui să acumuleze mai mult de jumătate din numărul total.

Ciclul 2 (suplimentat). Cea mai performantă linie din ciclul anterior se încrucișează cu hibridul din generația F_1 și din descendență se selectează un set de linii DH. Ciclul contribuie la reînnoirea genomului în medie cu o pătrime. În linia medie un sfert din alelele plus colectate în ciclul anterior, vor dispărea, iar în schimb vor fi obținute altele noi. Prin utilizarea celei mai bune linii se va pierde mai puțin, dar se va câștiga mai mult. Ciclul se numește suplimentat, deoarece genomul este suplimentat cu alele plus noi.

Ciclul 3 (restaurat). A fost conceput pentru returnarea totală sau parțială a plus alelelor dispărute în ciclul anterior. Cea mai bună linie din cel de-al doilea ciclu este încrucișată cu cea mai bună linie din primul ciclu, iar din hibrid se selectează un set de linii DH. La linia medie, jumătate din alelele plus pierdute în ciclul foi vor fi restaurate, iar jumătate din cele nou suplimentate vor fi pierdute. La cea mai bună linie se vor returna mai multe, dar se vor pierde mai puține alele plus.

În continuare, alternarea ciclurilor de suplimentare (pare) și restaurare (impare) continuă. În ciclul de suplimentare numerotat k , cea mai performantă linie DH din ciclul $k-1$ este încrucișată cu hibridul F_1 , un set de linii DH este derivat din descendenți. În ciclul de restaurare $k+1$, cea mai bună linie din ciclul k se încrucișează cu cea mai bună linie din ciclul $k-1$. Un set de

linii DH este derivat din hibrid, cea mai rezultativă dintre ele este selectată pentru a fi implicată în următoarele două cicluri. Selecția poate fi continuată până se oprește progresul de ameliorare, stabilit prin productivitatea celor mai performante linii din ciclul de restaurare. Rezultatul final este cea mai bună linie din ultimul ciclu de restaurare.

5.2. Testările-model ale diferitelor scheme ale selecției plantelor dihaploide

Scheme pentru fixarea heterozisului în selecția plantelor dihaploide au fost propuse, de asemenea, de Струнников și Гончарова [30, 45]. Schema elaborată de autorul Струнников diferă de cea prezentată în teză, prin absența ciclurilor restaurate. În schema autorului Гончарова, din fiecare ciclu se selectează două linii DH cu productivitate înaltă și contrastante conform markerilor moleculari, iar din hibridul dintre ele se produc linii pentru ciclul următor.

Eficiența tuturor celor trei scheme a fost evaluată printr-o simulare la calculator. Au fost cercetați următorii parametri: fiecare ciclu include 50 de linii DH, numărul de gene este 20, 50 și 100, efectele lor sunt similare, nu există interacțiuni non-alelice. Numărul de cromozomi și lungimea lor de recombinare sunt aceleași ca și la porumb. Alelele favorabile au fost diferite la părinți și totodată distribuite aleatoriu în genom; înainte de fiecare simulare distribuția a fost determinată repetat. În fiecare variantă au fost efectuate 100 de simulări a șapte cicluri de selecție. Schema autorului Гончарова a fost testată în trei variante: 5, 10 sau 15 cele mai productive linii au fost selectate din 50 linii DH, dintre care s-a identificat cea mai contrastantă pereche. Deosebirile au fost determinate de genotipul locilor activi. Testele de simulare au fost reproduse până la ciclul 7 (Tabelul 9).

În toate variantele, cu excepția primului ciclu comun tuturor schemelor, schema autorului Strunnikov a prezentat rezultate mai puțin relevante decât schema autorului Гончарова. Începând cu ciclul 5, schema autorului Струнников rămâne semnificativ în urmă în ceea ce privește rezultatele din schema suplimentată-restaurată. Dintre variantele testate în schema autorului Гончарова, varianta 5/50 s-a dovedit a fi cea mai eficientă pentru perioade scurte de selecție și 10/50 pentru cele pe termen lung. Aceste variante au un anumit avantaj în raport cu schema suplimentată-restaurată, care se diminuează odată cu creșterea numărului de loci și cicluri, și dispare la 100 de loci și 7 cicluri. Cu toate acestea, trebuie avut în vedere faptul că schema elaborată de către Гончарова a fost simulată cu o simplificare: deosebirile de markeri moleculari au fost substituite cu deosebirile de loci semnificativi pentru selecție, ceea ce a condus cu siguranță la supraestimarea rezultatelor. De asemenea, trebuie remarcat faptul că schema autorului Гончарова se bazează pe genotiparea moleculară. Dacă genotiparea moleculară este de asemenea utilizată în schema suplimentată-restaurată, atunci ar trebui să existe o eficiență mai mare, deoarece aceasta va conduce la o selectare mai rațională a liniei predecesoare pentru efectuarea următorului ciclu de selecție.

Tabelul 9. Eficiența diferitelor metode de selecție dihaploidă: proporția (%) de alele favorabile în cea mai productivă linie DH

Tipul modelului	Număr de loci	Numărul ciclului							Pierdut iremediabil
		1	2	3	4	5	6	7	
Струнников	20	74,2±0,5	81,2±0,5	85,3±0,5	86,9±0,5	87,7±0,5	88,6±0,5	87,9±0,5	
	50	65,4±0,3	70,2±0,3	73,2±0,3	74,2±0,3	74,9±0,3	75,3±0,3	75,7±0,4	
	100	61,2±0,2	64,5±0,2	66,6±0,2	67,5±0,2	67,6±0,2	67,8±0,2	67,8±0,2	
Suplimentată-restaurată	20	73,8±0,5	81,2±0,4	84,9±0,5	86,9±0,4	91,1±0,5	89,6±0,4	93,6±0,5	
	50	65,5±0,4	70,1±0,4	73,3±0,4	74,2±0,3	78,5±0,3	77,3±0,3	82,1±0,3	
	100	60,9±0,2	64,6±0,2	67,2±0,2	67,8±0,2	71,1±0,3	70,0±0,3	74,0±0,2	
Гончарова, selecție de 5 linii din 50	20	74,4±0,5	84,6±0,5	91,3±0,4	93,4±0,4	94,0±0,4	94,2±0,4	94,3±0,4	5,1±0,4
	50	65,4±0,4	72,2±0,3	76,7±0,3	79,6±0,3	81,3±0,3	82,2±0,3	82,6±0,3	16,4±0,3
	100	60,7±0,2	65,7±0,3	69,0±0,3	71,5±0,3	73,0±0,3	73,8±0,3	74,2±0,3	24,6±0,3
Гончарова, selecție de 10 linii din 50	20	74,8±0,6	82,2±0,5	88,2±0,5	92,2±0,5	94,3±0,4	95,3±0,5	96,1±0,4	2,2±0,3
	50	66,1±0,3	70,8±0,3	75,5±0,4	78,5±0,4	80,7±0,4	82,3±0,4	83,6±0,4	12,8±0,3
	100	61,1±0,2	65,1±0,3	67,6±0,3	69,9±0,3	71,6±0,3	72,9±0,3	73,7±0,3	22,3±0,3
Гончарова, selecție de 15 linii din 50	20	73,9±0,5	80,0±0,5	84,4±0,5	88,6±0,4	91,0±0,5	92,8±0,5	94,2±0,4	2,1±0,3
	50	65,5±0,4	69,5±0,4	72,7±0,4	75,1±0,4	77,3±0,4	79,0±0,3	80,4±0,4	13,5±0,3
	100	61,0±0,2	64,1±0,3	66,6±0,2	68,4±0,3	70,1±0,3	71,4±0,3	72,4±0,3	21,7±0,3

Să examinăm dinamica progresului de selecție. În schema autorului Гончарова, dinamica pozitivă poate fi urmărită până la ciclul 7, dar până la ultimul ciclu această metodă a ajuns aproape de limita capacităților sale: majoritatea alelelor plus care lipseau pentru fixarea completă a heterozisului, s-au dovedit a fi iremediabil pierdute (Tabelul 9). Asemenea pierderi apar atunci când aceleași plus alele sunt absente în liniile contrastante selectate și vor lipsi la toți descendenții acestei perechi de linii în toate ciclurile ulterioare. În alte scheme, pierderea nu este ireversibilă: orice alelă pierdută poate fi restabilită printr-o încrucișare suplimentată cu plante din generația F₁. Factorul limitativ aici nu este nivelul pierderilor irecuperabile, ci realizarea echilibrului atunci când numărul noilor plus alele este restabilit la fel de repede, ca și în cazul pierderii acestora. În schema autorului Струнников, echilibrul se realizează în 4-5 cicluri. În schema suplimentată-restaurată, echilibrul nu a fost încă atins până în ciclul 7, iar această schemă are cele mai bune perspective pentru continuarea procesului de selecție.

Raportul valorilor din Tabelul 9 cu productivitatea hibrizilor F₁ depinde de gradul mediu de dominare dominant/aditiv (d/a). Pentru a reproduce productivitatea genotipurilor din generația F₁ în linia consangvinizată, proporția colectată de plus alele ar trebui să fie $(1+d/a)/2$, ceea ce constituie 85%, presupunând cel mai probabil d/a=0,7 pentru porumb. Cu cel mai posibil număr de loci n=50 în schema suplimentată-restaurată și în schema elaborată de către Гончарова, în ciclul 7 se realizează fixarea aproape completă a heterozisului: 80-84% din plus alele sunt acumulate în cea mai bună linie dihaploidă. În schema autorului Струнников, 76% din plus alele

sunt acumulate în ciclul 7, ceea ce corespunde unei productivități intermediare între generația F₁ și F₂.

5.3. Selecția plantelor dihaploide în combinația hibridă Rf7×Ku123

La combinația hibridă Rf7×Ku123, au fost efectuate trei cicluri de selecție [40]. Liniile primului ciclu (44 linii din setul rk-0) au fost derivate direct din generația F₁. Acestea au fost testate în perioada anilor 2009-2017, în ultimul an testul fiind extins. În toți anii, productivitatea medie a setului de linii a coincis aproximativ cu valoarea celui mai rău părinte Ku123 (neprezentat în 2017), aproape jumătate din liniile DH aveau o productivitate mai mică decât cea a Ku123, dar unele linii au atins sau au depășit valoarea al celui mai bun părinte Rf7. Cea mai bună linie din primul ciclu, rk-5, a depășit Rf7 după productivitate cu 8,3% în 2017 (Tabelul 10, Fig. 2).

Al doilea ciclu a fost realizat în trei versiuni (Fig. 1). Cea mai productivă linie rk-5 a fost încrucișată cu hibridul din generația F₁ și din acest hibrid s-a obținut setul rk-200 (40 de linii). Ceilalți predecesori, rk-6 și rk-22 au fost aleși nu în baza productivității, ci pentru capacitatea de combinare pe care au demonstrat-o în *testcross*-uri cu Rf7. Seturile de linii DH rk-100 (52 linii) și rk-300 (15 linii) au fost produse prin *testcross*-uri rk-6×Rf7 și rk-22×Rf7. În cel de-al doilea ciclu, seturile rk-100 și rk-200 s-au dovedit a fi de succes, demonstrând un progress similar în 2017, atât în ceea ce privește valoarea medie a setului de linii, cât și a productivității celei mai bune linii. Cea mai înaltă productivitate s-a înregistrat la liniile rk-142, rk-225, rk-228 și rk-239. O atenție deosebită merită linia rk-206 care îmbină rezistența la secetă cu productivitatea similară, înregistrată la linia Rf7.

Tabelul 10. Testarea liniilor DH în combinația hibridă Rf7×Ku123 în 2010-2019

Ciclu	Setul și anul	Numărul de linii DH testate	Inclusiv >Rf7	Productivitatea primului știulete, g			
				Rf7 (martor)	Medie	Limite	Linia maximă comparativ cu Rf7
1	rk-0 (2010)	13	2	86,2	70,4	28,8-92,4	+7,2%
	rk-0 (2011)	23	0	114,8	80,0	24,2-106,7	-7,1%
	rk-0 (2014)	19	0	98,3	59,2	11,3-90,5	-7,9%
	rk-0 (2017)	31	1	103,9	71,1	21,6-112,5	+8,3%
2	rk-100 (2013)	50	11	138,1	113,5	49,8-149,7	+8,4%
	rk-100 (2017)	43	6	103,9	85,0	31,7-121,2	+16,7%
	rk-200 (2017)	40	9	103,9	87,1	49,6-117,0	+12,6%
	rk-300 (2017)	15	1	103,9	81,8	26,0-107,1	+3,1%
3	rk-410 (2017)	24	4	103,9	90,8	46,1-135,6	+30,5%
	rk-440 (2017)	8	0	103,9	59,2	22,8-97,8	-6,0%
	rk-450 (2019)	13	6	100,0	94,9	74,4-119,0	+19,0%

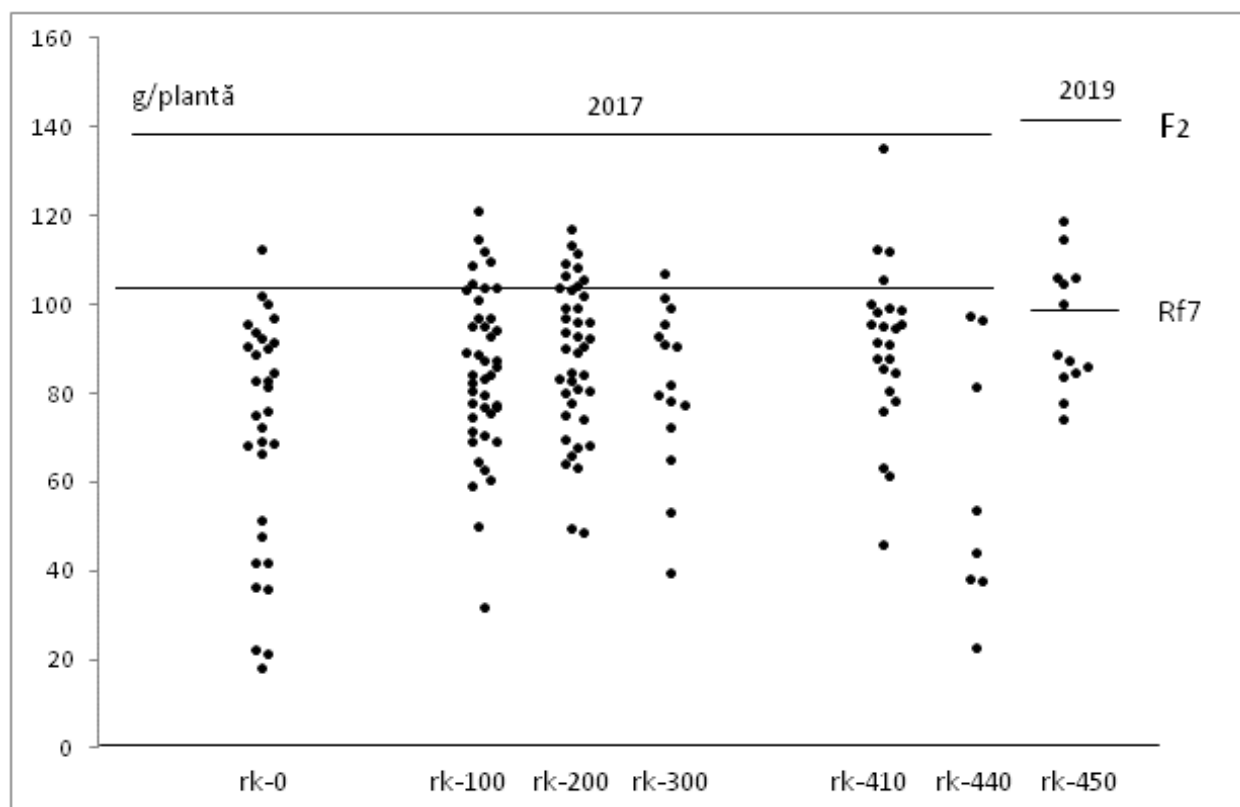


Fig. 2. Comparația seturilor de porumb rk după productivitatea primului știulete

Al treilea ciclu a fost, de asemenea, realizat în trei versiuni. Toți predecesorii prezentau setul rk-100. Liniile rk-148 și rk-138 au fost selectate în baza capacității de combinare, iar rk-142 – a productivității. Seturile de linii DH rk-410 (24 linii), rk-440 (8 linii) și rk-450 (15 linii) s-au obținut din familiile rk-148×Rf7, rk-138×Ku123 și rk-142×F₁. Primele două seturi au fost testate în anul 2017, ultimul set – în 2019 (Tabelul 10, Fig. 2). Concluzionând după nivelul productivității liniei Rf7 și hibridului din generația F₂(Rf7×Ky123) (martori), condițiile din 2017 și 2019 au fost similare, fapt ce permite prezentarea într-o singură diagramă. Seturile de linii rk-410 și rk-450 au prezentat performanțe. Ultimul set a înregistrat o productivitate medie sporită (în raport cu martorul), dar cea mai reușită linie rk-459 a demonstrat valori ale caracterului la nivelul celor mai bune linii din ciclul doi. Cea mai productivă linie din ciclul trei s-a identificat în setul rk-410. Aceasta este linia rk-433, care a prezentat o productivitate de 135,6 g/plantă în 2017 – cu 30,5% mai mare decât valoarea celui mai bun părinte Rf7 și s-a apropiat de productivitatea generației F₂(Rf7×Ky123). Acest rezultat a fost reprodus în 2019 într-un eșantion mărit: 129,5 față de 100,0 pentru Rf7. Astfel, rata progresului de selecție a fost de 10% *per* ciclu.

Rezultatele demonstrează că în selecția dihaploidă este posibil să se aplice cu succes astfel de tehnici care ar fi imprevizibile în selecția recurentă. Dacă, în selecția recurentă, o variantă avansată este încrucișată cu materialul inițial pentru a restabili alelele lipsă, dar

favorabile, acest lucru ar duce nu la progres, ci la regresie, deoarece frecvența acumulată a alelelor favorabile ar reveni la nivelul inițial, excluderea alelelor nefavorabile ar reveni, iar selecția ar trebui luată de la început. Rezultatul demonstrează, de asemenea, că este mai oportun să se efectueze selecții treptate, chiar și cu un număr mic de variante în fiecare etapă, decât să se caute cea mai bună variantă din primul ciclu. Selecția în trei etape a necesitat testarea a 118 linii în total: 44 în setul rk-0, 50 în setul rk-100 și 24 în setul rk-410.

În cel de-al treilea ciclu, productivitatea a atins nivelul hibrizilor din generația F_2 și ar trebui să ne așteptăm ca deja în cel de-al patrulea ciclu acest nivel să fie depășit. Simularea-model oferă un pronostic favorabil pentru ciclurile următoare, deși atingerea nivelului F_1 este cu greu posibilă. În cazul liniilor DH consangvinizate, intermediare între F_1 și F_2 conform productivității, cultivarea acestora în locul hibrizilor F_1 poate fi justificată datorită randamentului semnificativ al producției de semințe.

5.4. Cazuri particulare de variabilitate genetică în combinația hibridă Rf7×Ku123

Atunci când genele a două linii parentale sunt combinate în dihaploizi, plantele pot prezenta caractere și proprietăți care nu sunt observate la liniile parentale sau sunt observate rar și într-o formă moderată. Dacă astfel de fenomene sunt discrete la nivel de set, adică sunt tipice pentru unele seturi și atipice pentru altele, ceea ce denotă că această proprietate este controlată de un număr mic de gene, deoarece este ușor pierdută sau dobândită.

Unele linii se caracterizează printr-un randament scăzut al boabelor, iar frecvența acestor linii este diferită în diferite seturi. Conform datelor din 2017–2019, frecvența liniilor cu randamentul mediu sub 80% a fost 11/31 (setul rk-0), 4/43 (setul rk-100), 1/40 (setul rk-200), 2/15 (rk-300), 2/24 (setul rk-410), 5/8 (setul rk-440) și 0/13 (setul rk-450) [36].

O altă anomalie este despicarea vârfului știuletelui (Fig. 3). De regulă, fenomenul nu se înregistrează la toți știuleții din linie, ceea ce denotă că manifestarea sa depinde nu numai de genotip, ci și de condițiile de mediu. Cu toate acestea, gradul mediu al severității anomaliei diferă la diferite linii. S-a manifestat slab la linia Rf7 și nu s-a manifestat deloc la linia Ku123. În primul ciclu, s-a constatat doar la linia rk-21, dar în ciclurile următoare s-a observat destul de des, în special în seturile rk-100 (19/52), rk-300 (7/15) și rk-410 (9/24). A fost mai puțin frecventă în setul rk-200 (7/40), rk-440 (1/8) și rk-450 (0/13). Anomalia este asociată cu proliferarea excesivă a meristemului floral, deoarece este însoțită de un număr semnificativ de rânduri de boabe [36].

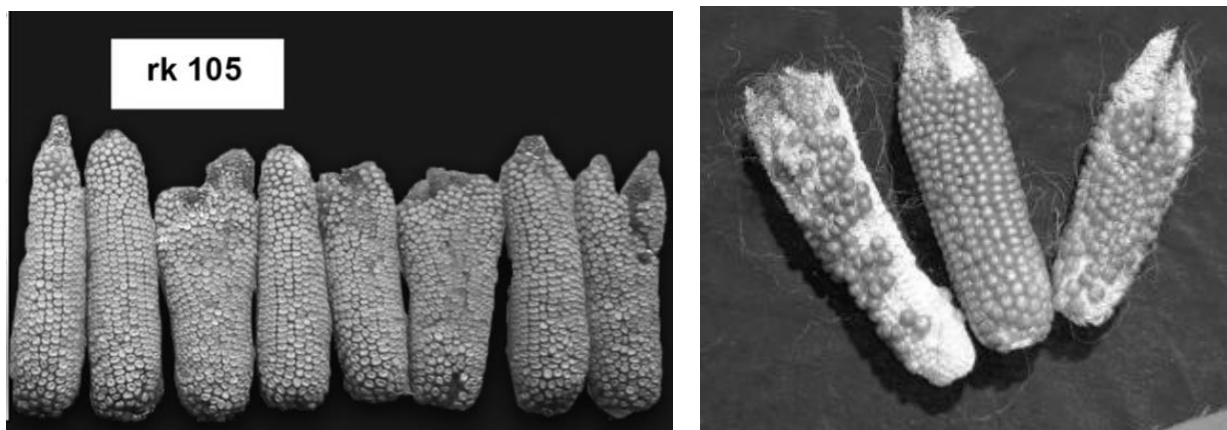


Fig. 3. Anomalie a vârfului știuletelui (pe dreapta mutație *dbcb1*, foto din MNL, 83, p.19)

Dintre mutațiile cunoscute asociate cu un fenotip similar (*ra1*, *ra2*, *ra3=fea4*, *fea1*, *fea2*, *fea3*, *td1*, *dbcb1* [17]), doar mutația *dbcb1* descrisă de Brewbaker în 2009 este manifestată în cercetările noastre (Fig. 3) [4]. Aceasta este singura mutație care afectează doar știuletele și nu provoacă modificări concomitente ale morfologiei paniculelor și plantelor. Mutația a pătruns probabil în dihaploizi din Rf7, deoarece nu se manifestă deloc în *testcross*-uri cu Ku123, dar se manifestă în *testcross*-uri cu Rf7. Probabil că Ku123 conține o alelă normală dominantă, în timp ce Rf7 - o alelă mutantă recesivă. Expresia slabă a mutației din Rf7, în opinia noastră, se explică cel mai bine prin teoria complexului genetic compensator [44]. Conform acestui concept, în timp, mutanții dezvoltă un complex de gene supresoare care slăbesc efectul unei mutații nefavorabile sau o elimină totalmente. Probabil, pe lângă mutație, linia Rf7 conține supresoare care sunt absente în Ku123. Când genele sunt recombinate în liniile DH, complexul compensator se descompune, astfel încât mutația, odată ajunsă în dihaploid, se manifestă în ea la maximum. Este posibil ca cazurile cu randamentul scăzut al boabelor pe știulete să fie asociate și cu dezintegrarea complexului compensator.

Pentru una din formele parentale (Ku123) este caracteristică dezvoltarea celui de al doilea știulete, contribuția căruia în productivitatea generală constituie 20%. La cealaltă formă (Rf7), al doilea știulete de regulă nu se dezvoltă. În ceea ce privește liniile dihaploide, în 4 seturi (rk-0, rk-100, rk-200 și rk-440), există o diversitate pentru acest caracter. Multe linii nu au doi știuleți, dar există linii în care al doilea știulete deține o contribuție semnificativă la productivitate - până la 1/3. În medie, în aceste seturi, al doilea știulete reprezintă 6-9% din productivitatea totală, dar în setul rk-300, rk-410 și rk-450, al doilea știulete dispare aproape complet. Prin urmare, rezultă că abilitatea de a dezvolta al doilea știulete este controlată de un număr mic de gene, deoarece aceasta se pierde cu ușurință [36].

5.5. Selecția plantelor dihaploide în combinația hibridă MK01×A619

În a doua combinație hibridă MK01×A619, au fost efectuate două cicluri de selecție [40]. Un număr de 45 de linii DH din primul ciclu, produse din generația F₁ (setul MA-0), au fost testate în anii 2003, 2004 și 2013. Rezultatele au coincis în general cu rezultatele primului ciclu în combinația hibridă Rf7×Ku123: aproape jumătate din linii au cedat în productivitate celui mai rău părinte A619 și doar câteva linii au atins, sau au depășit ușor nivelul celui mai bun părinte MK01 (Tabelul 11).

Tabelul 11. Testarea liniilor DH în combinația hibridă MK01×A619 în 2003-2016

Ciclu	Set și an	Numărul de linii DH testate	Inclusiv >MK01	Productivitatea primului știulete, g			
				MK01 (martor)	Medie	Limite	Linia maxima comparativ cu MK01
1	MA-0 (2003)	40	0	119,4	54,1	0,3-108,3	-9,3%
	MA-0 (2004)	41	2	104,3	57,7	1,2-109,3	+4,8%
	MA-0 (2013)	30	1	120,2	70,4	1,8-124,7	+3,7%
2	MA-100 (2013)	11	0	120,2	82,3	46,7-113,4	-5,7%
	MA-100 (2016)	7	0	101,5	40,3	1,8-91,5	-9,9%
	MA-200 (2016)	20	0	101,5	51,7	4,1-99,4	-2,1%

Al doilea ciclu este realizat în două versiuni (Fig. 1). Cele mai productive linii din primul ciclu, DH-3 și DH44-00 au fost încrucișate cu hibridul F₁, iar din aceste genotipuri au fost produse seturile MA-100 (11 linii) și MA-200 (20 linii). Seturile MA-100 și MA-200 au fost testate în anii 2013 și 2016, ultimul an fiind nefavorabil. Este de menționat, că unele linii din setul mai puțin numeroasă, MA-100 nu au răsărit. În al doilea ciclu, progresul relativ din primul ciclu s-a manifestat doar în ceea ce privește productivitatea medie, dar nu și productivitatea celei mai bune linii. În setul MA-100, valoarea medie a crescut conform anului 2013, în comparație cu primul ciclu, cu 12 g/plantă. Setul MA-200 nu a fost testată simultan cu primul ciclu și poate fi comparată cu primul ciclu indirect în raport cu genotipurile de control MK01 și A619. În primul ciclu, productivitatea medie a liniilor DH coincide aproximativ cu productivitatea genotipului A619, deviind în diferiți ani în limitele ±6 g/plantă. În setul MA-100, media a depășit valoarea A619 cu 13-18 g/plantă, iar în setul MA-200, depășirea a fost de 25 g/plantă în anul 2016.

Progresul ameliorativ ulterior este posibil în ciclul trei (restaurator), pentru realizarea căruia în setul MA-200 au fost selectate cele mai productive linii – MA-210 și MA-217.

5.6. Interacțiuni non-alelice în liniile dihaploide și în testcross-uri

Distribuția liniilor dihaploide după mai multe caractere, inclusiv productivitate, a demonstrat o asimetrie pronunțată în raport cu media așteptată care este egală cu $(P_1+P_2)/2$ în

primul ciclu. De exemplu, pentru productivitatea primului știulete la setul rk-0, raportul abaterilor pozitive și negative de la media așteptată a fost de 3:20 în anul 2011 și 3:16 în 2014. În setul MA-0, un raport similar a fost de 3:37 și 6:35 în anii 2003-2004. Această asimetrie este incompatibilă cu modelul aditiv-dominant și relevă manifestarea interacțiunilor non-alelice în controlul genetic al caracterelor. Caracterele mărimii plantelor și ale știuleților sunt caracterizate printr-o deplasare descendentă a distribuției, adică liniile sunt în medie mai mici și mai productive, decât teoretic așteptat. În ceea ce privește etapele fenologice, combinația hibridă Rf7×Ku123 prezintă o deplasare laterală, iar în combinația hibridă MK01×A619 – o deplasare timpurie [37]. Datele sumare pentru toate experimentele și datele încrucișărilor *testcross* sunt prezentate în tabelul 12.

În combinația hibridă Rf7×Ku123, asimetria maximă se referă la productivitatea primului știulete, lungimea primului știulete, diametrul tulpinii și lungimea panicului. Pentru lungimea primului știulete, asimetria este chiar mai pronunțată decât pentru productivitatea sa, ceea ce indică asupra faptului că factorii de interacțiune non-alelici care afectează productivitatea acționează în special prin lungimea știulețului. Concordanța observată pentru indicii de asimetrie ai lungimii știuletelui și lungimii panicului sugerează ideea caracterului comun al factorilor genetici corespunzători care acționează asupra proliferării meristemului inflorescenței în primele etape de dezvoltare.

În combinația hibridă MK01×A619, asimetria pentru productivitate a fost însoțită de asimetria nu pentru lungimea știuletelui și a panicului, dar a diametrului știuletelui și randamentul boabelor. Probabil că factorii care interacționează în mod non-alelic și care afectează productivitatea în această combinație sunt de altă natură și acționează la etape târzii, afectând randamentul boabelor și diametrul știuletelui [34].

La *testcross*-uri, distribuția caracterelor este aproape de simetrică, abaterile semnificative de la raportul 1:1 se atestă de două ori mai rar, iar abaterile înalt semnificative ($P < 0,001$) - de trei ori mai rar (Tabelul 12). Nu s-a stabilit o asimetrie semnificativă pentru productivitate, ceea ce este în concordanță cu rezultatele testului Cavalli (vezi 3.5).

Diminuarea componentei non-alelice în variabilitatea *testcross*-urilor se explică reușit prin valoarea inferioară a interacțiunilor *heterozigot-heterozigote* și *heterozigot-homozigote*, comparativ cu cele *homozigot-homozigote*. De asemenea, este posibilă și manifestarea factorilor suplimentari - tranziție la o gamă diferită de valori ale caracterelor în care efectele genetice se formează diferit, și interacțiunilor de ranguri superioare (trigenice și etc.), care în *testcross*-uri se pot manifesta cu o frecvență mai mică. Sub aspect practic, aceasta înseamnă că concluziile obținute în baza analizei genetice a *testcross*-urilor rămân valabile și se referă la gradul de

dominare, direcționarea efectelor și la *linkage*, dar pentru ameliorare interacțiunile non-alelice pot prezenta anumite impedimente.

Tabelul 12. Distribuția liniilor dihaploide și testcross-urilor după valorile caracterelor: proporția de depășire peste media teoretică în 2003-2017

Caracter	Combinăția hibridă Rf7×Ku123		Combinăția hibridă MK01×A619	
	Linii	Testcross-uri	Linii	Testcross-uri
Data înfloririi panicului	0,57 *	0,49	0,32 ***	0,29 ***
Data înfloririi știuletelui	0,61 **	0,44	0,33 ***	0,30 ***
Diferența panicul-știulete	0,55	0,44 *	0,48	0,42
Intervalul înflorire-maturitate	0,48	0,57 **	0,41 *	0,61 *
Data maturității	0,49	0,54	0,33 ***	0,41
Înălțimea plantei	0,38 ***	0,51	0,33 ***	0,50
Lungimea tulpinii	0,40 **	0,50	0,33 ***	0,55
Lungimea panicului	0,29 ***	0,52	0,49	0,39 *
Diametrul tulpinii	0,32 ***	0,41 ***	0,43	0,51
Randamentul boabelor	0,55	0,72 ***	0,27 ***	0,84 ***
Lungimea știuletelui	0,25 ***	0,55 *	0,45	0,52
Diametrul știuletelui	0,48	0,51	0,15 ***	0,63 **
Numărul de rânduri de boabe	0,52	0,49	0,44	0,64 **
Masa coceanului	0,43	0,54	0,51	0,41
Productivitatea primului știulete	0,27 ***	0,51	0,18 ***	0,39
Productivitatea știuleților rămași	0,37 **	0,48	0,20 ***	
Productivitatea totală	0,34 **	0,56	0,17 ***	

Nota. Semnificația diferenței de la 0,5: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

5.7. Randamentul boabelor în combinația hibridă MK01×A619

În combinația hibridă MK01×A619, productivitatea s-a dovedit a fi strâns legată de randamentul boabelor. La linia maternă MK01, randamentul mediu este aproape de 100%, dar linia paternă A619 se caracterizează printr-un randament incomplet, de la 20% la 90% în ani diferiți. Deosebiri în ceea ce privește randamentul boabelor se accentuează la liniile dihaploide și determină în mare parte diferența de productivitate. Aproape jumătate din linii au randamentul constant înalt (>90%), linia DH12-00 are randamentul în mod constant aproape de zero, celelalte linii sunt intermediare. Randamentul scăzut al boabelor este cauzat de apariția anevoiasă a stigmatelor din știulete, deoarece aceasta se manifestă doar la polenizarea liberă. La aplicarea polenizării manuale, randamentul boabelor este normal chiar și la linia neperformanță DH12-00 [36].

Randamentul boabelor este corelat cu culoarea coceanului. Formele inițiale diferă prin culoarea coceanului (MK01 - roșu, A619 - alb), care este controlată de locusul P1 (1-70, [17]). Liniile DH din setul MA-0 s-au distribuit conform culorii bobului aproximativ în mod egal, iar randamentul boabelor la liniile cu cocean roșu este în medie mai mare, la semnificația de P

$<0,05$. Aceasta, probabil, este o dovadă a *linkage*-ul locusului P1 cu factorul major al numărului mare de boabe.

Au fost efectuate studii suplimentare în încrucișările analitice, pentru care au fost alese liniile din primul ciclu cu randamentul scăzut, DH12-00 și DH40-00. În anul 2009, au fost testate familiile $(M \times 40) \times 40$, $(40 \times A) \times 40$, $(M \times 12) \times 12$ și $(A \times 12) \times 12$, iar în 2011 s-au repetat testele familiilor $(M \times 12) \times 12$ și $(A \times 12) \times 12$. Aici $M = MK01$, $A = A619$, $12 = DH12-00$, $40 = DH40-00$.

Famiiliile de retroîncrucișări $(M \times 40) \times 40$ și $(M \times 12) \times 12$ au prezentat o distribuție bimodală (Fig. 4-5), ceea ce este o dovadă a controlului oligogen. În Fig. 4 și 5 punctele cu valorile 0 și 100 pot fi situate în afara limitelor. În familia $(M \times 40) \times 40$ a fost observată o distribuție distinctă 1:1. Distribuirea familiei în două grupuri este în mod clar cauzată de o genă, a cărei plus alelă este dominantă și moștenită de la părintele MK01. În familia $(M \times 12) \times 12$ de asemenea distribuția este bimodală, dar mai apropiată de 3:1 – digenică decât de 1:1 – monogenică. Din aceasta rezultă că linia DH40-00 diferă de MK01 cu o genă, iar linia DH12-00 – cu două. În ceea ce privește diferențele genetice dintre liniile DH și A619, nu au fost observate efecte monogene și nici digenice. Distribuțiile sunt strict unimodale (Fig. 5), ceea ce indică acțiunea mai multor gene.

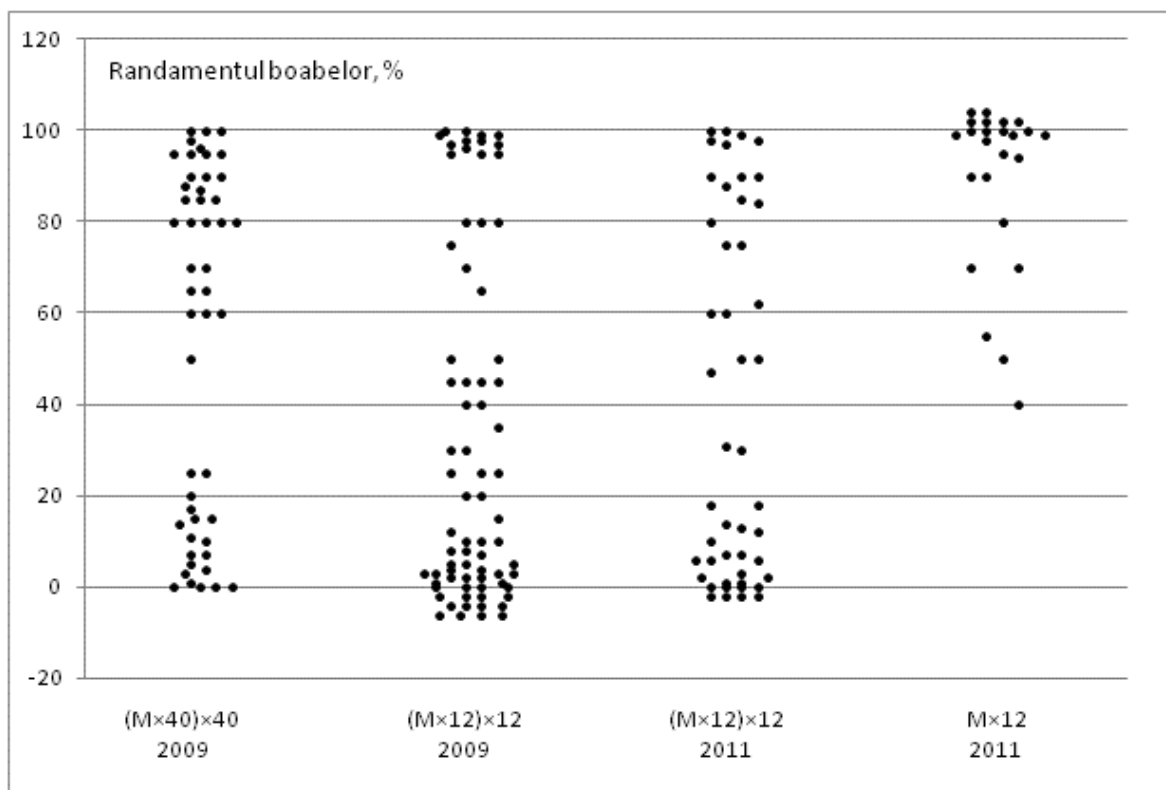


Fig. 4. Randamentul boabelor în familiile $(M \times DH) \times DH$ și martor

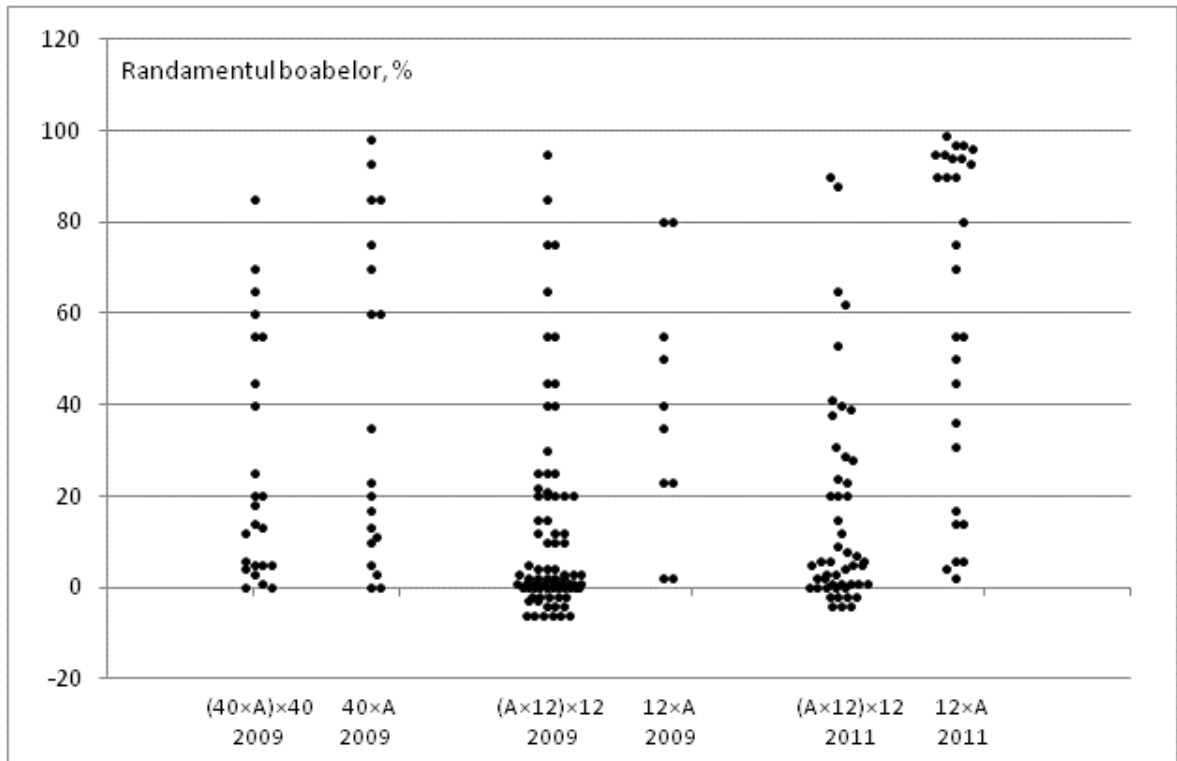


Fig. 5. Randamentul boabelor în familiile (DH×A)×DH și genotipurile martor

Pentru a separa varianța genetică de cea de mediu și pentru a estima numărul locilor prin varianță, s-au obținut familii autopolenizate din încrucișările analitice: 27 de familii din (M×12)×12 și 46 de familii din (A×12)×12. Varianța genetică dintre familii [(M×12)×12]⊗ a fost de 603,3 procente pătrate, iar dintre familii [(A×12)×12]⊗ – 105,5. Deoarece caracterul din genotipurile extreme prezintă valori extreme, se poate utiliza formula Wright [28] care în cazul nostru are următoarea modificare:

$$n = \frac{(2+\alpha)^2}{64\sigma_{gen}^2}, \text{ unde } \alpha \text{ este gradul mediu de dominare, } \sigma_{gen}^2 - \text{varianța genetică.}$$

Deoarece plus alelele sunt concentrate într-un component a încrucișării (DH12-00 nu deține plus alele), gradul mediu de dominare a fost calculat ca estimare liniară:

$$\alpha_M = \frac{S(M \times 12) - (S(M) + S(12))/2}{S(M) - S(12)}, \alpha_A = \frac{S(A \times 12) - (S(A) + S(12))/2}{S(A) - S(12)},$$

unde S este randamentul mediu al genotipului indicat între paranteze, α_M și α_A – gradul mediu de dominare a plus alelelor moștenite de la MK01 și A619. Calculele au demonstrat următoarele estimări ale numărului de plus alele și ale dominanței lor medii:

$$n_M = 2,0 \pm 0,6, \alpha_M = 0,78$$

$$n_A = 6,0 \pm 1,3, \alpha_A = 0,46.$$

Astfel, MK01 diferă de DH12-00 cu una sau două plus alele dominante, în timp ce A619 diferă de DH12-00 prin mai multe plus alele semidominante (supresoare), aproximativ șase [20].

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI PRACTICE

Concluzii generale

1. A fost elaborată metoda pentru calcularea estimărilor nedeplasate ale parametrilor genetici pătratici în care se elimină efectul de *linkage*, ceea ce face posibilă obținerea unor estimări informative ale celui mai important element al organizării genetice a heterozisului - gradul mediu de dominare, precum și o serie de alte elemente – numărul locilor activi principali, direcția medie de dominare în locii activi și *linkage*-ul mediu între ei.

2. Estimările nedeplasate aplicate la șase populații de porumb au arătat o prevalență a interacțiunilor dominante și semidominante în efectul de heterozis, cu o dominanță medie tipică de 0,7. Acest rezultat completează substanțial dovezile experimentale obținute anterior, măbind numărul de exemple care confirmă teoria dominanței de la 4 la 10.

3. Dintre interacțiunile non-alelice la porumb, predomină interacțiunile *homozigot x homozigote*, care fără a aduce o contribuție semnificativă la efectul heterozis, sunt implicate semnificativ în depresia consangvinizată. Interacțiunile non-alelice nu au un efect semnificativ asupra estimărilor gradului mediu de dominanță.

4. Valorile nedeplasate ale parametrilor pătratici pot fi folosite pentru a aprecia numărul factorilor genetici majori. S-a demonstrat că la porumb câteva zeci de loci, aproximativ 30-70, sunt responsabili de heterozis în cazul productivității și reprezintă partea principală a efectului de heterozis.

5. În locii care controlează productivitatea porumbului, dominanța este cu preponderență unidirecțională: posibilele efecte negative pot ajunge în total nu mai mult de 1/7 din totalul celor pozitive. La alte caractere, dominanța poate fi multidirecțională.

6. Pentru compararea grupurilor de hibrizi și linii parentale, a fost propusă o valoare statistică numită *heterozis normalizat*, care fiind o generalizare a frecvenței heterozisului adevărat (*high parent heterosis*), face posibilă o interpretare genetică a datelor de comparație. S-a arătat că această parametru este o funcție a gradului mediu de dominanță și a numărului mediu al principalilor loci care controlează heterozisul.

7. A fost elaborată o metodă pentru aprecierea intervalului *linkage*-ului mediu dintre locii activi. Pentru combinația hibridă Rf7×Ku123, estimarea a fost de 0,04-0,08, ceea ce corespunde celei așteptate statistic pentru aranjarea aleatorie a genelor și dovedește corectitudinea metodei aplicate de excludere a efectului *linkage*-ului. Concluzia despre natura dominantă a heterozisului rămâne valabilă pentru orice valoare a *linkage*-ului mediu din intervalul identificat.

8. În generațiile tardive de consangvinizare, *linkage*-ul dintre loci este redus datorită *cis*-efectului fundalului genetic homozigot. Pe un fundal heterozigot, frecvența recombinării este în

concordanță cu cea așteptată conform mapelor genetice, în timp ce pe un fondal homozigot, aceasta practic se dublează față de cea așteptată.

9. A fost elaborată schema de selecție suplimentată-restaurată, orientată spre combinarea alelelor favorabile responsabile de heterozis într-o linie consangvinizată. Metoda este destinată fixării totale sau parțiale a heterozisului de orice natură, cu excepția supradominanței.

10. Ciclurile inițiale de selecție dihaploidă testate pe porumb au demonstrat că trei cicluri de selecție în combinația hibridă Rf7×Ku123 au contribuit la crearea liniilor consangvinizate care au depășit cea mai bună formă parentală Rf7 în productivitate cu 30%.

11. Progresul de selecție observat la combinația hibridă Rf7×Ku123 coincide cu ratele care sunt așteptate în simularea numerică cu 50-100 loci activi și gradul dominanței mediu de 0,7-1,0. Aceste valori sunt apropiate de estimările obținute în experiențele genetice și confirmă în mod indirect veridicitatea acestora.

12. Pentru combinația hibridă MK01×A619 a fost identificat controlul oligogen al randamentului boabelor: linia A619 poartă 1-2 mutații care obstrucționează apariția stigmatelor din știulete, al căror efect este parțial compensat de câteva supresori semidominanți. Manifestarea acesteia și a altor caractere calitative studiate este în concordanță cu teoria efectului compensator al genelor.

Recomandări practice

1. Pentru aprecierea caracterelor cantitative la porumb prin analize clasice se recomandă completarea acestora cu metode de calcul care iau în considerare efectul *linkage*-ului, ceea ce permite obținerea aprecierilor nedeplasate ale parametrilor genetici integrali.

2. În programele de ameliorare, pentru identificarea recombinanților valoroși, se recomandă utilizarea generațiilor târzii de consangvinizare, deoarece la predominarea homozigoției în genom, frecvența recombinărilor se mărește semnificativ.

3. Linia de porumb Rf7 se recomandă în calitate de sursă a factorilor genetici care sporesc frecvența dublării spontane a genomului haploizilor. În populațiile haploide, genomul cărora este moștenit de la linia Rf7, dublarea spontană a cromozomilor poate atinge frecvența de 20%.

4. Pentru sporirea productivității liniilor homozigote de porumb pot fi utilizate plantele dihaploide în baza schemei de selecție suplimentat-restaurată, condițiile de bază fiind: a) numărul limitat de linii în ciclul de selecție (20-50), b) ciclul se execută cel puțin în 2 variante paralele, c) în fiecare ciclu nou, linia predecesoare se selectează în baza productivității sau a capacității combinative la restroîncrucișarea cu formele parentale.

5. Liniile dihaploide de porumb rk-5, rk-6, rk-148, rk-206, rk-225, rk-228, rk-239, rk-

433, rk-459, MA-210 și MA-217 se recomandă pentru ameliorare în calitate de donori ai genelor favorabile sporirii productivității, linia rk-206 fiind propusă și în calitate de donator al genelor rezistenței la secetă.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. ALLARD, R.W. Evidence for restriction of recombination in the Lima bean. In: *Genetics*. 1963, vol. 48, nr. 10, pp. 1389-1395. ISSN 0016-6731.
2. ANDORF, C., BEAVIS, W.D. Technological advances in maize breeding: past, present and future. In: *Agronomy Publications*. 2019, article 567 [citat 31.08.2019]. ISSN 2572-679X. Disponibil: https://lib.dr.iastate.edu/agron_pubs/567
3. BAKHTIAR, F., AFSHARI, F., NAJAFIAN, G., MOHAMMADI, M. Backcross-breeding and doubled-haploid facilitated introgression of stripe rust resistance in bread wheat. In: *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2014, vol. 47, nr. 14, pp. 1675-1685. ISSN 0323-5408.
4. BREWBAKER, J.L. Double-cob (*dbcb*) on chromosome 1. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2009, vol. 83, p. 19. ISSN 1090-4573.
5. COCKERHAM, C.C. and ZENG, Z. Design III with marker loci. In: *Genetics*. 1996, vol. 143, nr. 3, pp. 1437-1456. ISSN 0016-6731.
6. COMSTOCK, R.H. and ROBINSON, H.F. Estimation of average dominance of genes. In: *Heterosis*. Ames, IA: Iowa state college press, 1952. pp. 495-517.
7. DEIMLING, S., RÖBER, F., GEIGER, H.H. Methodik und Genetik der in-vivo Haploideninduktion bei Mais. In: *Vorträge für Pflanzenzüchtung*. 1997, vol. 38, nr. 1, s. 203-204. ISSN 0723-7812.
8. FAOSTAT. Информационный портал Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций. [citat 05.02.2020]. Disponibil: <http://www.fao.org/faostat/ru/#data/QC>
9. FRASCAROLI, E., CANÈ, M.A. et al. Classical genetic and quantitative trait loci analyses of heterosis in a maize hybrid between two elite inbred lines. In: *Genetics*. 2007, vol. 176, nr. 1, pp. 625-644. ISSN 0016-6731.
10. GARCIA, A.A.F., WANG, S., MELCHINGER, A.E., ZENG, Z. Quantitative trait loci mapping and the genetic basis of heterosis in maize and rice. In: *Genetics*. 2008, vol. 180, nr. 3, pp. 1707-1724. ISSN 0016-6731.
11. GARDNER, C.O. Estimates of genetic parameters in cross-fertilizing plants and their implications in plant breeding. In: *Statistical genetics and plant breeding*. Washington, D.C.: Nat. Acad. Sci. and Nat. Res. Council, 1963, pp. 225-252. ISBN 9780598606464.

12. HALLAUER, A.R, CARENA, M.J., MIRANDA FILHO, J.B. *Quantitative genetics in maize breeding*. N.-Y.; Dordrecht; Heidelberg; L.: Springer, 2010. 664 p. ISBN 978-1-4419-0766-0.
13. HINZE, L. and LAMKEY, K.R. Absence of epistasis for grain yield in elite maize hybrids. In: *Crop. Sci.* 2003, vol. 43, nr. 1, pp. 46-56. ISSN 0011-183X.
14. LARIÈPE, A., MANGIN, B. et al. The genetic basis of heterosis: multiparental quantitative trait loci mapping reveals contrasted levels of apparent overdominance among traits of agronomical interest in maize (*Zea mays* L.). In: *Genetics*, 2012, vol. 190, nr. 2, pp. 795-811. ISSN 0016-6731.
15. LI, Z., COFFEY, L. et al. Genotype-by-environment interactions affecting heterosis in maize. In: *PLOS ONE*. 2018, vol. 13, nr. 4, e0191321 [citat 23.05.2019]. ISSN 1932-6203. Disponibil: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191321>
16. LÜBBERSTEDT, T., FREI, U.K. Application of doubled haploids for target gene fixation in backcross programs. In: *Plant Breeding*. 2012, vol. 131, nr. 3, pp. 449-452. ISSN 1439-0523.
17. *Maize genetics and genomics database*. Maize genetics executive committee [citat 23.05.2019]. Disponibil: <http://www.maizegdb.org/>
18. MARTIN, J.M. and HALLAUER, A.R. Relation between heterozygosis and yield for four types of maize inbred lines. In: *Egyptian Journal of Genetics and Cytology*. 1976, vol. 5, pp. 119-135. ISSN 0046-161X.
19. **MIKHAILOV, M.E.** Spontaneous chromosome doubling in maize haploids: the cases of high frequency. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* [online]. 2017, vol. 91, article 4 [citat 04.07.2019]. ISSN 1090-4573. Disponibil: <https://mnl.maizegdb.org/91/pdf/04Mikhailov.pdf>
20. **MIKHAILOV, M.E.** The genetic of kernel set in one of the maize hybrids. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2013, vol. 87, pp. 11-12. ISSN 1090-4573.
21. MITHILA, J. and HALL, J.C. Production of an auxinic herbicide-resistant microspore-derived doubled haploid wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) plant. In: *Crop Protection*. 2007, vol. 26, nr. 3, pp. 357-362. ISSN 0261-2194.
22. MOLL, R.H. and ROBINSON, H.F. Quantitative genetic investigations of yield of maize. In: *Theor. Appl. Genet.* 1967, vol. 37, nr. 4, pp. 192-205. ISSN 0040-5752.
23. MUROVEC, J. and BOHANEK, B. Haploids and doubled haploids in plant breeding. In: *Plant breeding*. Rijeka, Croatia: InTech, 2012, pp. 87-106. ISBN 978-953-307-932-5.
24. PASCHOLD, A., JIA, J. et al. Complementation contributes to transcriptome complexity in maize (*Zea mays* L.) hybrids relative to their inbred parents. In: *Genome Research*. 2012, vol. 22, nr. 12, pp. 2445-2454. ISSN 1088-9051.
25. ROTARENCO, V., SARMANIUC, M., POPESCU, V., CLICIUC, D., **MIHAILOV, M.**,

- MASLOBROD, S., JACOTĂ, A. Dublarea numărului de cromozomi la plantele haploid de porumb. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2010, nr. 1(310), pp. 39-44. ISSN 1857-064X.
26. SARMANIUC, M., **MIHAILOV, M.**, RUSU G. Eficiența noilor inductori în obținerea haploizilor materni la porumb (*Zea mays* L.). În: *Buletinul AȘM, Științele vieții*. 2013, nr. 2(320), pp. 205-110. ISSN 1857-064X.
27. SHAMSHAD, M. and SHARMA, A. The Usage of Genomic Selection Strategy in Plant Breeding. In: *Next Generation Plant Breeding*. IntechOpen, 2018. [citat 5.09.2020]. ISBN: 978-1-83881-542-4. Disponibil: <https://intechopen.com/books/next-generation-plant-breeding/the-usage-of-genomic-selection-strategy-in-plant-breeding>
28. ZENG, Z. Correcting the bias of Wright's estimates of the number of genes affecting a quantitative character: a further improved method. In: *Genetics*. 1992, vol. 131, nr. 4, pp. 987-1001. ISSN 0016-6731.
29. ZIOLKOWSKI, P.A., BERCHOWITZ, L.E. et al. Juxtaposition of heterozygous and homozygous regions causes reciprocal crossover remodelling via interference during *Arabidopsis* meiosis. In: *eLife*. 2015, vol. 4, e03708 [citat 23.05.2019]. ISSN 2050-084X. Disponibil: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4407271/>
30. ГОНЧАРОВА, Ю.К. Метод закрепления гетерозисного эффекта – реализация на растениях (к столетию со дня рождения В.А. Струнникова). В: *Онтогенез*. 2014, т. 45, № 6, с. 442-443. ISSN 0475-1450.
31. МАЗЕР, К., ДЖИНКС, Дж. *Биометрическая генетика*. М.: Мир, 1985, 464 с.
32. **МИХАЙЛОВ М.Э.** Оценка сцепления между факторами продуктивности кукурузы. В: *Genetica, Fiziologia și Ameliorarea Plantelor (conf. șt. intern., Ed. VI-a)*. Chișinău, 2017, p. 144-147. ISBN 978-9975-56-463-2.
33. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Влияние генотипа на способность гаплоидов кукурузы к спонтанному удвоению. В: *Biotehnologii avansate - realizări și perspective (III simp. naț. cu part. intern.)*. Chișinău, 2013, p. 57. ISBN 978-9975-56-111-2.
34. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Неаллельные взаимодействия у дигаплоидных линий кукурузы: физиологические корреляции. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective (simp. șt. int.)*. Chișinău, 2019, p. 49. ISBN 978-9975-56-695-7.
35. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** О новой возможности использования дигаплоидных линий: схема обогатительно-восстановительной селекции. В: *Генетика*. 2010, т.46, № 6, с. 853-860. ISSN 1022-7954.
36. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** *Применение дигаплоидных линий в генетическом анализе и в селекции кукурузы*. Кишинев: Print-Caro, 2018, 232 с. ISBN 978-9975-56-605-6.

37. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Проявление неаллельных взаимодействий в селекции дигаплоидных линий кукурузы. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective (simp. șt. int.)*. Chișinău, 2019, p. 50. ISBN 978-9975-56-695-7.
38. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Статистическая величина "существенность гетерозиса" и ее генетический смысл. В: *Генетика*. 2005, т. 41, № 6, с. 855-862. ISSN 1022-7954.
39. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Учет среднеожидаемого сцепления в биометрическом анализе количественных признаков. В: *Генетика*. 2015, т. 51, № 8, с. 953-962. ISSN 0016-6758.
40. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Эффективность метода возвратных скрещиваний в дигаплоидной селекции кукурузы. В: *Биотехнология и селекция растений*. 2019, т. 2, № 2, с. 24-32. ISSN 2658-6266.
41. **МИХАЙЛОВ, М.Э., ЧЕРНОВ, А.А.** Влияние гетерозиготности по маркерным локусам на частоту рекомбинации в соседних участках хромосом у кукурузы. В: *Генетика*. 2004, т. 40, № 7, с. 925-929. ISSN 0016-6758.
42. **РОКИЦКИЙ, П.Ф.** *Биологическая статистика*. Минск: Высшая школа, 1973, 320 с.
43. **СОКОЛОВ, В.А., ХАТЫПОВА, И.С.** Будет ли следующая «зеленая революция»? В: *Информационный вестник ВОГиС*. 2002, № 19, с. 5-12. ISSN 1814-5558.
44. **СТРУННИКОВ, В.А.** Возникновение компенсационного комплекса генов – одна из причин гетерозиса. В: *Журн. общ. биологии*. 1974, т. 35, № 5, с. 666-676. ISSN 0044-4596.
45. **СТРУННИКОВ, В.А., СТРУННИКОВА, Л.В.** Природа гетерозиса, методы его повышения и закрепления в последующих поколениях без гибридизации. В: *Изв. РАН, сер. биол.* 2000, т. 27, № 6, с. 679-687. ISSN 0002-3329.
46. **ЧАЛЫК, С.Т.** *Методы гаплоидии в генетике и селекции кукурузы*. Кишинев: Изд. Центр ГАУМ, 2003, 179 с. ISBN 9975-946-58-5.

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

1. Cărți de specialitate (recomandate spre editare de consiliul științific)

1.1. cărți de specialitate monoautor

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** *Применение дигамплоидных линий в генетическом анализе и в селекции кукурузы*. Кишинев: Print-Caro, 2018, 240 с. ISBN 978-9975-56-605-6.

2. Articole în reviste științifice

2.1. în reviste internaționale cotate ISI și SCOPUS

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э., ЧЕРНОВ, А.А.** Генетико-статистический анализ числа рядов зерен у кукурузы. В: *Цитология и генетика*. 1999, т. 33, № 5, с. 19-25. ISSN 0564-3783.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э., ЧЕРНОВ, А.А.** Влияние гетерозиготности по маркерным локусам на частоту рекомбинации в соседних участках хромосом у кукурузы. В: *Генетика*. 2004, т. 40, № 7, с. 925-929. ISSN 0016-6758.
3. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Статистическая величина "существенность гетерозиса" и ее генетический смысл. В: *Генетика*. 2005, т. 41, № 6, с. 855-862. ISSN 1022-7954.
4. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** О новой возможности использования дигамплоидных линий: схема обогатительно-восстановительной селекции. В: *Генетика*. 2010, т.46, № 6, с. 853-860. ISSN 1022-7954.
5. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Учет среднеожидаемого сцепления в биометрическом анализе количественных признаков. В: *Генетика*. 2015, т. 51, № 8, с. 953-962. ISSN 0016-6758.

2.2. în reviste din străinătate recunoscute

1. ROTARENCO, V., DICU, G., **MIHAILOV, M.**, STATE, D. Selection and breeding experiments at the haploid level in maize (*Zea mays* L.). In: *Journal of Plant Breeding and Crop Science*. 2012, vol.4, nr 5, pp. 72-79. ISSN 2006-9758.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Эффективность метода возвратных скрещиваний в дигамплоидной селекции кукурузы. В: *Биотехнология и селекция растений*. 2019, т. 2, № 2, с. 24-32. ISSN 2658-6266.

2.3. în reviste din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э., НИКОЛАЕВА, М.Г., ХОРОШИЛОВ, В.В., ЧЕРНОВ, А.А.** Корреляция частоты хиазм и рекомбинации с количественными признаками кукурузы. В: *Известия АН РМ. Биологические и химические науки*. 1994, № 6(273), с. 19-22. ISSN 0568-5192 (Cat.B).
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э., ХОРОШИЛОВ, В.В., ЧЕРНОВ, А.А.** Изучение изменчивости гаплоидных генотипов кукурузы по количественным признакам. В: *Известия АН РМ. Биологические и химические науки*. 1995, № 1(274), с. 33-35. ISSN 0568-5192 (Cat.B).
3. ROTARENCO, V., DICU, G., **MIHAILOV, M.**, MASLOBROD, S., SARMANIUC, M., JACOTĂ, A. Utilizarea plantelor haploide în ameliorarea populațiilor sintetice la porumb. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2009, nr 1(307), pp. 67-73. ISSN 1857-064X (Cat.B).
4. ROTARENCO, V., SARMANIUC, M., POPESCU, V., CLICIUC, D., **MIHAILOV, M.**, MASLOBROD, S., JACOTĂ, A. Dublarea numarului de cromozomi la plantele haploid de porumb. În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2010, nr 1(310), pp. 39-44. ISSN 1857-064X(Cat.B).

5. SARMANIUC, M., **МИХАЙЛОВ, М.**, RUSU, G. Eficienta noilor inductori în obținerea haploizilor materni la pohumb (*Zea mays* L.). În: *Buletinul AȘM. Științele vieții*. 2013, nr 2(320), pp. 105-110. ISSN 1857(Cat.B).

3. Articole în culegeri științifice

3.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Дигаплоидная селекция кукурузы на продуктивность и засухоустойчивость инбредных линий. В: *Наука, производство, бизнес: современное состояние и пути инновационного развития аграрного сектора на примере агрохолдинга Байсерке-Агро* : междунар. науч.-практ. конф. Алматы, Казахстан, 2019, т. 3. с. 64-69. ISBN 978-601-332-295-7.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э.**, БОТНАРЬ, В.Ф. Применение дигаплоидных линий в селекции кукурузы. В: *Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям будущего*: мат. II междунар. науч. конф., посвященной памяти акад. Е.И. Ермакова, Санкт-Петербург, 2-4 окт. 2019. СПб, 2019, с. 454-461. ISBN 978-5-905200-40-3.

3.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Получение инбредных линий кукурузы по двухступенчатой схеме гаплоидной селекции. В: *Современное состояние и перспективы инновационного развития сельского хозяйства: междунар. науч.-практ. конф.* Тирасполь, 2015, с. 118-121. ISBN 978-9975-53-552-6.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Оценка сцепления между факторами продуктивности кукурузы. In: *Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor*: materialele conf. șt. intern., 9-10 oct. 2017. Ed. a 6-a. Chișinău: S. n., 2017 (Tipogr. "Print-Caro"), pp. 144-147. ISBN 978-9975-56-463-2.
3. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Итоги трех циклов дигаплоидной селекции кукурузы. În: *Lucrări șt. Univ. Agrară de Stat din Moldova*: Ser. Agronomie și agroecologie. Chișinău, 2018, 52(1), pp. 286-291. [Mat. simpoz. șt. intern. „85 ani ai Facultății de Agronomie – realizări și perspective”, dedicat aniv. a 85 de ani de la fondarea Univ. Agrare de Stat din Moldova, 4-6 oct. 2018]. ISBN 978-9975-64-301-6.
4. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Дигаплоидная селекция на собственную продуктивность инбредных линий кукурузы. В: *Межвидовые генотипы и изменение климата. «Селекция, семеноводство и технологии возделывания сельскохозяйственных культур»* (Международ. науч.-практ. конф.). Тирасполь, 2020, с. 110-113. ISBN 978-9975-3404-1.

3.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.**, БОТНАРЬ, В.Ф. Эффективность опыления у гаплоидных индукторов кукурузы. În: *Conf. șt. naț. cu part. intern. „Știința în Nordul Republicii Moldova: realizări, probleme, perspective”* (ed. V). Bălți, 2021, p. 77-80. ISBN 978-9975-62-432-9.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э.**, ЧЕРНОВ, А.А. Использование дигаплоидных линий кукурузы для генетического анализа количественных признаков. În: *Probleme actuale ale geneticii, biotehnologiei și ameliorării*: materialele conf. naț. (jubiliară) cu part. intern., 17-18 febr. 2005. Chisinau, 2005, pp. 276-280. ISBN 9975-64-034-6.
3. РОТАРЕНКО, В.А., **МИХАЙЛОВ, М.Э.**, ДИКУ, Г. Использование гаплоидных растений для создания высокоурожайных популяций кукурузы. În: *Probleme actuale ale geneticii, biotehnologiei și ameliorării*: materialele conf. naț. (jubiliară) cu part. intern., 17-18 febr. 2005. Chisinau, 2005, pp. 174-178. ISBN 978-9975-78-667-6.

3.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

1. ЧЕРНОВ, А.А., МИХАЙЛОВ, М.Э., МАСЛОБРОД, С.Н. Изучение коллекции линий кукурузы, полученных методом гаплоидии. In: *Plant agrobiodiversity*. Chișinău, 2006, pp. 209-218. ISBN 9975-62-149-X.

4. Teze în culegeri științifice

4.1. în lucrările conferințelor științifice internaționale (peste hotare)

1. **MIHAILOV, M.E.**, CHERNOV, A.A. The influence of maize genome segments on recombination frequency. In: *18 Eucarpia maize and sorghum conference*. Belgrade, Yugoslavia, 2000, p. 81. ISSN 0534-012.
2. ROTARENCO, V., DICU, G., **MIKHAILOV, M.**, MASLOBROD, S. Haploid recurrent selection in improvement of synthetic populations maize. In: *Maize and Sorghum Breeding in the Genomics era: the 21 Eucarpia maize and sorghum conference*. Bergamo, Italy, 2009, p. 101.
3. CHERNOV, A.A., **MIHAILOV, M.E.** The influence of homozygosis in some segments of the maize genome on recombination frequency in the neighboring ones. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 1999, vol. 73, p. 53. ISSN 1090-4573.
4. ROTARENCO, V.A., **MIHAILOV, M.E.** The use of haploid plants for evaluation of population genetic structure. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2002, vol. 76, pp. 11-13. ISSN 1090-4573.
5. **MIHAILOV, M.E.**, CHERNOV, A.A. Expression of plant height and cob weight in maize haploids. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2003, vol. 77, pp. 13-14. ISSN 1090-4573.
6. CHERNOV, A.A., **MIHAILOV, M.E.** Genetic, phenotypic and ecological correlations between flowering and productivity traits in maize. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2003, vol. 77, p. 14. ISSN 1090-4573.
7. **MIHAILOV, M.E.**, CHERNOV, A.A. Using double haploid lines of maize for quantitative trait analysis. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2006, vol. 80, p. 16. ISSN 1090-4573.
8. ROTARENCO, V.A., **MIHAILOV, M.E.** The influence of ear age on the frequency of maternal haploids by a haploid-inducing line. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2007, vol. 81, pp. 9-10. ISSN 1090-4573.
9. ROTARENCO, V.A., **MIHAILOV, M.E.**, DICU, G. Using haploid plants for the creation of high yield populations in maize. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2008, vol. 82, pp. 11-12. ISSN 1090-4573.
10. **MIKHAILOV, M.E.**, MASLOBROD, S.N., SARMANIUC, M. Combinative properties of maize double haploids. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2012, vol. 86, pp. 10-11. ISSN 1090-4573.
11. **MIKHAILOV, M.E.** The genetic of kernel set in one of the maize hybrids. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* 2013, vol. 87, pp. 11-12. ISSN 1090-4573.
12. **MIKHAILOV, M.E.** Spontaneous chromosome doubling in maize haploids: the cases of high frequency. In: *Maize Genet. Coop. Newsltr.* [online]. 2017, vol. 91, article 4 [citat 04.07.2019]. ISSN 1090-4573. Disponibil: https://mnl.maizegdb.org/91/pdf/04_Mikhailov.pdf

4.2. în lucrările conferințelor științifice internaționale (Republica Moldova)

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Генетический контроль гетерозиса у кукурузы: оценка средней степени доминирования. In: *The Xth international congress of geneticists and breeders*, Chisinau, Rep. of Moldova, 28 June-1 July 2015: abstract book. Chisinau: Biotehdesign, 2015, p. 119. ISBN 978-9975-933-56-8.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Е.** Improving of maize inbred lines by dihaploid selection. In: *International congress on oil and protein crops: (meeting of the Eucarpia oil and protein crops section)*. Chișinău, 2018, p. 81. ISBN 978-9975-3178-5-6.
3. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Неаллельные взаимодействия у дигамплоидных линий кукурузы: физиологические корреляции. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: simpozionul științific internațional* (Ediția a V-a), 21-21 oct. 2019: teze. Chișinău, 2019, p. 49. ISBN 978-9975-56-695-7
4. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Проявление неаллельных взаимодействий в селекции дигамплоидных линий кукурузы. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: simpozionul științific internațional* (Ediția a V-a), 21-21 oct. 2019: teze. Chișinău, 2019, p. 50. ISBN 978-9975-56-695-7.
5. **МИХАЙЛОВ, М.Е.** Inheritance of drought tolerance in maize backcross generations. In: *The XIth International Congress of Geneticists and Breeders from the Republic of Moldova*. Chisinau, 2021, p. 105. ISBN 978-9975-152-13-6.

4.3. în lucrările conferințelor științifice naționale cu participare internațională

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Влияние генотипа на способность гаплоидов кукурузы к спонтанному удвоению. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: al 3-lea simpozion naț. cu participare intern.*, 24-25 oct. 2013: teze. Chișinău, 2013, p. 57. ISBN 978-9975-56-111-2.
2. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Засухоустойчивость дигамплоидных линий кукурузы. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: al 3-lea simpoz. naț. cu participare intern.*, 24-25 oct. 2013: teze. Chișinău, 2013, p. 166. ISBN 978-9975-56-111-2.
3. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Сравнение двух способов обогащения генома дигамплоидных линий кукурузы. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: al 4-lea simpoz. naț. cu participare intern.*, 3-4 oct. 2016: teze. Chișinău, 2016, p. 40. ISBN 978-9975-56-371-0.
4. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Возможности безколхицинового удвоения генома гаплоидов кукурузы. În: *Biotehnologii avansate – realizări și perspective: al 4-lea simpoz. naț. cu participare intern.*, 3-4 oct. 2016: teze. Chișinău, 2016, p. 41. ISBN 978-9975-56-371-0.

4.4. în lucrările conferințelor științifice naționale

1. **МИХАЙЛОВ, М.Э., ЧЕРНОВ, А.А.** Изменчивость гибридов F₁ кукурузы по частоте рекомбинации. În: *Genetica și ameliorarea plantelor și animalelor în Moldova* : materialele șt. ale congr. 6 a genet. și amelior. din Moldova, sept. 1992. Chișinău, 1992, p. 139-141.
2. **МАСЛОБРОД, С.Н., РОТАРЕНКО, В.А., МИХАЙЛОВ, М.Э., САРМАНЮК, М.А.** Усовершенствование методики удвоения генома у гаплоидной кукурузы. În: *Genetica și fiziologia rezistenței plantelor* : In memoriam acad. Anatolie Jacotă : teze conf. șt., 21

ADNOTARE

Mihailov Mihail, "Elementele de bază ale organizării genetice a heterozisului la porumb și particularitățile valorificării acesteia în selecția plantelor dihaploide", teză de doctor habilitat în științe biologice, Chișinău, 2021.

Structura tezei: introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie din 233 titluri, 2 anexe, 215 pagini de text de bază (până la Bibliografie), 37 figuri, 47 tabele. Rezultatele obținute sunt publicate în 46 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: porumb, heterozis, linii haploide, linii dihaploide, selecție, genetică biometrică, caractere cantitative, *linkage*, *crossing-over*.

Scopul lucrării: identificarea elementelor de bază ale organizării genetice a heterozisului la porumb pentru optimizarea procesului de selectare a plantelor dihaploide, orientat spre crearea liniilor consangvinizate cu productivitate înaltă.

Obiectivele cercetării: elaborarea și aplicarea metodei de determinare a *linkage*-ului la aprecierea parametrilor genetici; elaborarea și aplicarea schemei de selecție a plantelor dihaploide orientată spre obținerea liniilor homozigote cu productivitate maximă din hibrizi simpli.

Noutatea și originalitatea științifică. Au fost soluționate noi probleme ale geneticii biometrice: aprecierea valorilor nedeplasate ale gradului mediu de dominare și de poligenie pentru caracterele cantitative; aprecierea intervalului *linkage*-ului mediu; interpretarea genetică a datelor statistice ale manifestării heterozisului. Rezultatele obținute au făcut posibilă stabilirea unor aspecte importante privind natura genetică a heterozisului la porumb: heterozisul productivității este controlat de efecte dominante și semidominante, dominanța fiind practic unidirecționată, cea mai mare parte a efectului heterozis este determinată de câteva zeci de loci; *linkage*-ul mediu dintre ei corespunde nivelului teoretic statistic așteptat pentru localizarea aleatorie a genelor. A fost stabilită *cis*-reglarea *crossing-over*-ului la porumb. A fost elaborată și testată la porumb o nouă metodă de selecție a plantelor bazată pe folosirea dihaploizilor – schema de selecție suplimentată-restaurată care a contribuit la creșterea productivității liniilor consangvinizate cu 30% în ciclul 3 de selecție.

Problema științifică soluționată constă în *fundamentarea științifică* a unei noi direcții în genetica biometrică, bazată pe optimizarea calculului efectelor *linkage*-ului genetic, ceea ce a condus la identificarea mai exactă a elementelor de bază ale organizării genetice a heterozisului la porumb, fapt ce a permis elaborarea schemei de selecție suplimentat-restaurată la plantele dublu haploide, orientată la crearea liniilor homozigote productive prin acumularea genelor favorabile responsabile de heterozis.

Semnificația teoretică. Procedeele de calcul elaborate pentru *linkage*-ul mediu și contribuția distorsiunilor acestuia extind posibilitățile analizei biometrice a caracterelor cantitative, deoarece aprecierea *linkage*-ului rămâne una dintre cele mai puțin investigate aspecte ale geneticii biometrice. Metodele elaborate fac posibilă obținerea unor estimări veridice ale gradului mediu de dominare, în lipsa cărora problema naturii dominante sau superdominante a heterozisului nu a fost încă complet soluționată.

Rezultatele experimentale obținute relevă prevalența interacțiunilor dominante în efectul heterozis la porumb, fiind un argument important în favoarea teoriei dominanței. Parametrul *heterozis normat* introdus de autor permite o interpretare genetică a datelor obținute cu privire la manifestarea heterozisului la un grup de genotipuri. Efectul detectat al fondalului homozigot asupra frecvenței de recombinare nu este prevăzut de ipotezele de *crossing-over* existente și necesită o revizuire a acestora. Manifestarea unor caractere cantitative și calitative la liniile dihaploide este în concordanță cu teoria efectului compensator al genelor.

Valoarea aplicativă. Schema de selecție suplimentată-restaurată elaborată permite crearea liniilor consangvinizate de porumb cu productivitate înaltă, iar în caz favorabil poate duce la fixarea heterozisului. Schema este aplicabilă pentru diferite culturi la care este posibilă obținerea liniilor dihaploide. Efectul constat al dublării frecvenței de recombinare între locii heterozigoți pe fundalul homozigot poate soluționa problema variabilități inaccesibile a recombinăției.

Implementarea rezultatelor științifice. Metodele de creare a liniilor dihaploide au fost implementate în practica de ameliorare și se utilizează pentru obținerea hibrizilor de porumb productivi în cooperare cu Institutul de Fitotehnie "Porumbeni" și crearea liniilor consangvinizate productive în Laboratorul Resurse Genetice Vegetale a Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor.

АННОТАЦИЯ

Михайлов Михаил Эрикович, "Основные элементы генетической организации гетерозиса кукурузы и особенности ее использования в дигаплоидной селекции", диссертация на соискание ученой степени доктора хабилитат биологических наук, Кишинев, 2021.

Структура диссертации: введение, 5 глав, общие выводы и рекомендации, библиография из 233 источников, 2 приложения, 215 страниц основного текста (до библиографии), 37 рисунков, 47 таблиц. Полученные результаты опубликованы в 46 научных работах.

Ключевые слова: кукуруза, гетерозис, гаплоиды, дигаплоиды, селекция, биометрическая генетика, количественные признаки, сцепление, кроссинговер.

Цель: установить основные элементы генетической организации гетерозиса кукурузы для оптимизации процесса дигаплоидной селекции, направленной на создание высокопродуктивных инбредных линий.

Задачи: разработать и применить метод учета сцепления в оценке генетических параметров; разработать и применить схему дигаплоидной селекции, направленную на получение из простых гибридов гомозиготных линий с максимальной продуктивностью.

Научная новизна и оригинальность. Решены новые задачи биометрической генетики: оценка несмещенных значений средней степени доминирования и меры полигенности количественного признака; интервальная оценка среднего сцепления; генетическая интерпретация статистических данных проявления гетерозиса. Полученные результаты позволили установить некоторые важные аспекты генетической природы гетерозиса у кукурузы: гетерозис по продуктивности контролируется доминантными и полудоминантными эффектами, доминирование практически однонаправленное, основная часть гетерозисного эффекта детерминирована несколькими десятками локусами, среднее сцепление между ними соответствует статистически ожидаемому для случайного расположения генов. Обнаружена цис-регуляция кроссинговера у кукурузы. Разработан и испытан на кукурузе новый метод селекции растений, основанный на применении дигаплоидов – схема обогатительно-восстановительной селекции, которая способствовала повышению продуктивности инбредных линий на 30% в 3-м цикле отбора.

Решенная научная проблема состоит в *научном обосновании* нового направления в биометрической генетике, основанного на оптимизации учета эффектов генетического сцепления, *что способствовало* более точной идентификации основных элементов генетической организации гетерозиса у кукурузы и *позволило разработать* схему обогатительно-восстановительной дигаплоидной селекции, направленную на создание продуктивных гомозиготных линий путем накопления благоприятных генов, отвечающих за гетерозис.

Теоретическая значимость. Выведенные способы расчета среднего сцепления и вносимых им искажений расширяют возможности генетического анализа количественных признаков, так как учет сцепления остается одним из наименее разработанных вопросов биометрической генетики. Разработанные методы позволяют получать несмещенные оценки средней степени доминирования, из-за отсутствия которых до сих пор не решен однозначно вопрос о доминантной или сверхдоминантной природе гетерозиса. Полученные экспериментальные результаты показывают преобладание доминантных взаимодействий в эффекте гетерозиса у кукурузы, являясь весомым аргументом в пользу теории доминирования. Введенное нами понятие нормированного гетерозиса позволяет давать генетическую интерпретацию данным по групповому проявлению гетерозиса. Обнаруженный эффект гомозиготного фона на частоту рекомбинации не предсказываются существующими гипотезами кроссинговера и требует их пересмотра. Проявление отдельных количественных и качественных признаков в дигаплоидных линиях согласуется с теорией компенсационного комплекса генов.

Прикладное значение. Разработанная схема обогатительно-восстановительной селекции позволяет создавать высокопродуктивные инбредные линии, а в благоприятном случае может привести к закреплению гетерозиса. Схема применима к любым культурам, у которых возможно получение дигаплоидных линий. Обнаруженный эффект двукратного повышения частоты рекомбинации между гетерозиготными локусами на гомозиготном фоне может решить проблему недоступной рекомбинационной изменчивости.

Внедрение результатов в практику. Методы создания дигаплоидных линий внедрены в селекционную практику и используются при получении продуктивных гибридов кукурузы в рамках сотрудничества с Институтом растениеводства «Порумбень» и создании высокопродуктивных инбредных линий в Лаборатории генетических ресурсов растений Института генетики, физиологии и защиты растений.

SUMMARY

Mikhailov Mikhail, "Basic elements of genetic architecture of heterosis in maize and details of using its in dihaploid breeding", dissertation for the degree of doctor habilitat of biological sciences, Chisinau, 2021.

Thesis structure: introduction, 5 chapters, conclusions and recommendations, bibliography of 233 sources, 2 supplements, 215 pages of the main text (before bibliography), 37 figures, 47 tables. The results are published in 46 scientific works.

Keywords: maize, heterosis, haploids, doubled haploids, breeding programs, biometrical genetics, quantitative traits, linkage, crossing-over.

Aim of the work: to establish the basic elements of genetic architecture of heterosis in maize to optimize dihaploid breeding process oriented to creating high-productive inbred lines.

Objectives: to develop and apply the method of accounting for linkage in the evaluation of genetic parameters; develop and apply a dihaploid breeding scheme aimed at the most productive homozygous line from a simple hybrid.

Scientific novelty and originality. The new problems of biometric genetics have been solved: estimation of unbiased values of an average degree of dominance and polygenism criterion of quantitative traits; interval estimation of average linkage; genetic interpretation of the group statistics of manifestation of heterosis. The results obtained made it possible to establish some important aspects of the genetic nature of heterosis in maize: productivity heterosis is controlled by dominant and semi-dominant effects, and the dominance is almost unidirectional; the main part of the heterosis effect is distributed over several dozen loci, the average linkage between them corresponds to the statistically expected for a random arrangement of genes. Cis-regulation of crossing over in maize was detected. A new breeding method designed for the use of dihaploids was developed and tested on maize - the enriching-restoring breeding scheme, which contributed to an increase in the productivity of inbred lines by 30% in the 3rd breeding cycle.

The solved scientific problem consists in the scientific substantiation of a new direction in biometric genetics, based on the optimization of the calculation of the effects of genetic linkage, which led to the more accurate identification of the main elements of the genetic organization of maize heterosis, which allowed the elaboration of the enriching-restoring breeding scheme for double haploid plants, aimed at creating productive homozygous lines by accumulating favorable genes responsible for heterosis.

Theoretical significance: methods for evaluation of mean linkage and the linkage biases on genetic parameters expand the possibilities of biometric analysis of quantitative traits, since the accounting for linkage remains one of the least developed issues of biometric genetics. The methods developed here make it possible to obtain unbiased estimates of mean degree of dominance, due to the lack of which the question of the dominant or overdominant nature of heterosis has not yet been unambiguously resolved. The experimental results obtained here suggest the prevalence of dominant interactions in the heterosis effect in maize, being a strong argument for the theory of dominance. The parameter of normalized heterosis introduced here allows one to give a genetic interpretation of data on the group manifestation of heterosis. The detected effect of a homozygous background on the recombination frequency is not predicted by the existing crossover hypotheses and requires revision of its. The manifestation of some quantitative and qualitative traits in dihaploid lines is consistent with the theory of the compensation complex of genes.

Applicative value. The enriching-restoring breeding scheme allows create high-yielding inbred lines, and in the favorable case can lead to the fixation of heterosis. This scheme it is applicable to any cultures where doubled haploid lines can be obtained. The observed effect of a twofold increase in the recombination frequency between heterozygous loci against a homozygous background can solve the problem of inaccessible recombination variability.

Implementation of results: methods for producing dihaploid lines have been introduced into breeding practice and are used to create productive maize hybrids in the framework in cooperation with the institute "Porumbeni" and to create high-yielding inbred lines in Laboratory of Plant Genetic Resources, Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection.

MIHAILOV MIHAIL

**ELEMENTELE PRINCIPALE ALE ORGANIZĂRII GENETICE
A HETEROZISULUI LA PORUMB ȘI PARTICULARITĂȚILE
VALORIFICĂRII ACESTEIA ÎN SELECȚIA
PLANTELOR DIHAPLOIDE**

162.01. Genetică vegetală

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe biologice

Aprobat spre tipar: 21.05.2021

Formatul hârtiei A4

Hârtie ofset. Tipar digital

Tiraj 50 ex.

Coli de tipar: 1,0

Comanda nr. 18

Tipografia „PRINT - CARO”,
Str. Astronom Nicolae Donici 14 mun. Chișinău MD-2049
tel.(022) 85-33-86