

ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ, ФИЗИОЛОГИИ И ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

На правах рукописи
УДК: 633.15:[575.222.78:631.527](478)

МИХАЙЛОВ МИХАИЛ ЭРИКОВИЧ

**ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
ОРГАНИЗАЦИИ ГЕТЕРОЗИСА КУКУРУЗЫ
И ОСОБЕННОСТИ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

162.01. Генетика растений

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора habilitat биологических наук

Кишинев, 2021

Работа выполнена в лаборатории Генетика устойчивости растений Института генетики, физиологии и защиты растений

Научные консультанты:

БОТНАРЬ Василий, доктор хабилитат сельскохозяйственных наук

ЛУПАШКУ Галина, доктор хабилитат биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

МУСТЯЦА Симион, доктор хабилитат сельскохозяйственных наук, профессор

ЧЕСНОКОВ Юрий Валентинович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Агрофизический научно-исследовательский институт", Санкт-Петербург, Россия

ЧЕРНОБАЙ Лариса Николаевна, доктор сельскохозяйственных наук, Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, Харьков, Украина

Состав специализированного ученого совета:

ГОНЧАРЮК Мария - *председатель*, доктор хабилитат сельскохозяйственных наук, профессор

КОТЕНКО Евгения – *ученый секретарь*, доктор биологических наук

ГРАТИ Василий, доктор хабилитат биологических наук, профессор

ЦЫГАНАШ Василий, доктор хабилитат сельскохозяйственных наук

КРИВОВ Николай Васильевич, доктор биологических наук, профессор

БАЛАШОВА Ирина Тимофеевна, доктор биологических наук

ТИМИНА Ольга Олеговна, доктор биологических наук

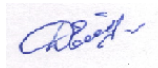
Защита состоится **04 ноября 2021 г. в 10-00 час.** на заседании Специализированного ученого совета ДН 162.01-21-1 при Институте генетики, физиологии и защиты растений по адресу: MD-2002, ул. Лесная, 20, Кишинев, Республика Молдова.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Института генетики, физиологии и защиты растений и на веб-странице Национального агентства по обеспечению качества в образовании и исследованиях (www.cnaa.md)

Автореферат разослан "01 " 08 " 2021

Ученый секретарь Специализированного ученого совета,

КОТЕНКО Е., доктор биологических наук



Научный консультант,

БОТНАРЬ В., доктор хабилитат сельскохозяйственных наук



Научный консультант,

ЛУПАШКУ Г., доктор хабилитат биологических наук, профессор



Автор МИХАЙЛОВ М.Э.



©MIHAILOV Mihail, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. ГЕНЕТИКА ГЕТЕРОЗИСА И ВОЗМОЖНОСТИ ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ.....	8
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	8
3. НЕСМЕЩЕННЫЕ ОЦЕНКИ КВАДРАТИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У КУКУРУЗЫ.....	11
3.1. Оценка средней степени доминирования.....	13
3.2. Особые случаи расчета степени доминирования.....	13
3.3. Оценка числа генетических факторов.....	13
3.4. Экспериментальная оценка степени доминирования	15
3.5. Анализ неаллельных взаимодействий.....	17
3.6. Экспериментальная оценка числа действующих факторов.....	19
4. ОЦЕНКА ЛИНЕЙНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И СРЕДНЕГО СЦЕПЛЕНИЯ У КУКУРУЗЫ.....	20
4.1. Сопоставление линейных и квадратичных генетических оценок.....	20
4.2. Нормированный гетерозис как характеристика признаков.....	21
4.3. Оценка среднего сцепления между действующими локусами.....	22
4.4. Рекомбинация на гомозиготном фоне.....	24
5. ВОЗМОЖНОСТИ ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ У КУКУРУЗЫ.....	26
5.1. Схема обогатительно-восстановительной селекции.....	27
5.2. Модельные испытания различных схем дигапloidной селекции.....	29
5.3. Дигапloidная селекция в гибридной комбинации Rf7×Ky123.....	29
5.4. Частные случаи генетической изменчивости в гибридной комбинации Rf7×Ky123.....	31
5.5. Дигапloidная селекция в гибридной комбинации МК01×А619.....	33
5.6. Неаллельные взаимодействия в дигапloidных линиях и тесткроссах.....	34
5.7. Озерненность початка в гибридной комбинации МК01×А619.....	35
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	38
БИБЛИОГРАФИЯ.....	41
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ НА ТЕМУ ДИССЕРТАЦИИ.....	44
АННОТАЦИИ (румынский, английский, русский).....	49

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В последнее время производство зерна кукурузы растет в мировом масштабе опережающими темпами по сравнению с другими зерновыми, что связано с ее особой ролью важнейшей кормовой культуры. Ее доля в общем сборе зерновых возросла с 29% в 2000 г. до 38% в 2017 г., а в ряде стран этот показатель значительно выше (США – 84%, Китай – 42%, Бразилия – 83%, Молдова – 54%) [8]. Производство зерна кукурузы растет за счет расширения площадей, улучшения агротехники, а также генетического селекционного прогресса, который в развитых странах составляет сейчас 1% в год [2].

Большое значение сейчас придается ускорению и оптимизации селекционного процесса, так как современные методы селекции дорогостоящие, и каждый процент прироста обходится дороже, чем в прошлом веке [2]. Значительный вклад в экономию времени сейчас вносит применение дигаплоидов – генотипов, получаемых удвоением генома гаплоидов, так как они позволяют производить рекомбинантные инбредные линии в сжатые сроки и в массовом количестве. Их применение стало обязательным в ведущих селекционных центрах, таких, как Pioneer, Monsanto, Limagrain, KWS, CIMMYT и др. [23]. Возможности дигаплоидов еще полностью не реализованы, и поиск новых путей их применения остается актуальной задачей [16, 23, 30].

Дигаплоиды применяются в основном для массового получения рекомбинантных линий в традиционных схемах селекции [23]. Дигаплоиды также показали свою эффективность в интрогрессии единичных генов методом возвратных скрещиваний [3, 21]. Теоретически возможна и одновременная интрогрессия нескольких генов, так как благодаря гаметическому расщеплению 1:1 в дигаплоидах многократно повышается частота мультигенных сочетаний [16]. Данная особенность дигаплоидов позволяет вести целенаправленный отбор на сохранение и исключение целых групп генов и применять новые селекционные схемы. В частности, с дигаплоидами связан поиск новых путей закрепления гетерозиса [30, 45]. Не исключено, что применение дигаплоидов позволит вывести инбредные линии с такой же продуктивностью, как у гибридов и решить, таким образом, задачу закрепления гетерозиса, которая для кукурузы до сих пор не решена, несмотря на неоднократные попытки [43].

Возможности использования дигаплоидов, ожидаемые результаты и темпы их достижения зависят от генетической организации количественных признаков, которая на сегодняшний день изучена фрагментарно. Не сделан окончательный выбор между гипотезами доминирования и сверхдоминирования. Не совсем ясна степень концентрации гетерозисного эффекта по локусам. Нет полной ясности относительно доли влияния неаллель-

ных взаимодействий, соотношения положительных и отрицательных эффектов [9, 14].

От степени изученности генетической организации количественных признаков зависит и надежность прогностического моделирования селекционного процесса, которому сейчас уделяется особое внимание, так как оно позволяет избегать потери времени и ресурсов при попытках реализации малоэффективных селекционных программ [2]. Эффективность моделирования в значительной степени зависит от точности прогноза фенотипа по генотипу, которая пока еще остается неудовлетворительной, из-за чего, в частности, сдерживается практическая реализация метода геномной селекции [27]. Надежность прогнозирования зависит, среди прочего, и от степени изученности генетических взаимодействий, как внутрилокусных, так и межлокусных. Поэтому исследование взаимодействий, лежащих в основе генетической организации количественных признаков, является в настоящий момент задачей непосредственной практической важности.

Анализ генетической организации количественных признаков осложняется влиянием сцепления на генетические оценки. Эффекты соседних локусов трудно разделить, отчего биометрические данные часто не допускают однозначной интерпретации. Эта проблема существует и в классическом анализе, и в анализе QTL (*Quantitative Trait Loci*). Эффективных методов учета влияния сцепления до сих пор не разработано, отчего затруднительно оценивать среднюю степень доминирования, число действующих локусов, а также отдельно оценивать положительные и отрицательные эффекты [9, 14].

В данной работе предпринята попытка решить эту проблему, разработав для классического анализа методы получения несмещенных оценок и применив их в экспериментах с дигаплоидами кукурузы. И, основываясь на полученных результатах, разработать и испытать на дигаплоидах новые селекционные приемы.

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

Задачи исследования:

- Разработать методы расчета несмещенных значений интегральных генетических параметров, в которых элиминирован эффект сцепления.
- В тестерных скрещиваниях дигаплоидных линий, полученных в гибридных комбинациях кукурузы Rf7×Ky123 и МК01×А619, провести генетический анализ гетерозиса у различных количественных признаков с оценкой следующих параметров: средняя степень доминирования, направление доминантных эффектов, число основных действующих генетических факторов, доля влияния неаллельных взаимодействий.

- Разработать метод интервальной оценки среднего неравновесия по сцеплению между локусами количественных признаков и использовать его для проверки корректности вычисленных оценок генетических параметров.
- Разработать селекционный метод, направленный на объединение в дигаплоидной линии возможно большего количества благоприятных аллелей из исходных форм простого гибрида с целью получения максимально продуктивной гомозиготной линии, и испытать его возможности в модельных экспериментах.
- Провести начальные циклы дигаплоидной селекции в гибридных комбинациях кукурузы Rf7×Ку123 и МК01×А619 и оценить ее эффективность.
- Сравнить реальный селекционный прогресс в данных гибридных комбинациях с ожидаемым и оценить адекватность примененной генетической модели.

Исследовательская гипотеза. Разработанная схема дигаплоидной селекции рассчитана на доминантную природу гетерозиса. В ином случае, если за гетерозис отвечают сверхдоминантные взаимодействия, предложенная схема не может достичь поставленной цели – собрать в гомозиготной линии возможно больше генетических эффектов, отвечающих за гетерозис. Практическая применимость данной схемы зависит и от других факторов (неаллельные взаимодействия, число действующих локусов и характер распределения их по геному), но только сверхдоминантная природа гетерозиса делает применение предложенной схемы принципиально невозможным. Поэтому применимость схемы обогатительно-восстановительной селекции зависит в первую очередь от справедливости одной из двух основных гипотез гетерозиса – сверхдоминирования и доминирования. Между этими гипотезами предстояло сделать выбор в данной работе, в ходе анализа основных элементов генетической организации количественных признаков кукурузы.

Методология исследования. Гаплоидные семена кукурузы получали матроклиным методом, опыляя материнские растения пыльцой индукторов МНІ и LНІ [46]. Дигаплоиды получали колхицинированием гаплоидных растений по методу Deimling [7]. Генетический анализ количественных признаков проводили по экспериментальной схеме СК-3 [5, 6]. Статистическую обработку данных проводили как собственными методами, так и ранее разработанными (метод Комстока-Робинсона для оценки средней степени доминирования [5], метод Райта [28] для оценки числа эффективных генетических факторов, метод Кавалли для тестирования неаллельных взаимодействий [31]). Для численного моделирования, обработки данных и графического представления результатов использовали программный пакет Excel.

Основные положения, представленные на защиту:

1. Новые методы статистического анализа, включая метод расчета несмещенных оценок квадратичных генетических параметров, в которых элиминирован эффект сцепления, и метод интервальной оценки среднего сцепления между действующими локусами, основанный на сравнении дисперсий разного ранга.
2. Новые аргументы в пользу теории доминирования для кукурузы, состоящие в установлении несмещенных значений средней степени доминирования, не превышающих единицу, и в повышении статистической обоснованности теории путем увеличения числа подтверждающих примеров с 4 до 10.
3. Генетические закономерности гетерозиса у кукурузы, состоящие в преобладании положительно направленных доминантных и полудоминантных взаимодействий с типичной средней степенью доминирования 0,7 и высокой однонаправленностью; распределении основной части гетерозисного эффекта по нескольким десяткам локусов (ориентировочно 30-70), среднее неравновесие по сцеплению между которыми (0,04-0,07) соответствует статистически ожидаемому.
4. Значимость гомозигот-гомозиготных взаимодействий в проявлении хозяйственно-ценных признаков у дигаплоидов кукурузы, которые вносят существенный вклад в инбредную депрессию.
5. Новая статистическая величина нормированного гетерозиса, позволяющая давать генетическую интерпретацию данным групповой статистики проявления гетерозиса.
6. Цис-эффект гомозиготности на рекомбинацию в соседних маркированных сегментах генома кукурузы, приводящий к двукратному повышению частоты кроссинговера.
7. Схема обогатительно-восстановительной дигаплоидной селекции, направленная на максимальное объединение в инбредной линии благоприятных аллелей, отвечающих за гетерозис, практическое применение которой привело к созданию в третьем цикле инбредной линии, превосходящей по продуктивности лучшую родительскую форму на 30%.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ. Представлена краткая характеристика работы, включая актуальность темы, цель и задачи исследования, исследовательскую гипотезу, методологию исследования, обзор глав, выносимые на защиту положения.

1. ГЕНЕТИКА ГЕТЕРОЗИСА И ВОЗМОЖНОСТИ ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ

По литературным данным сделан анализ методов и возможностей биометрической генетики. Дан обзор современных представлений о генетической природе гетерозиса и возможности его закрепления, рассмотрены основные концепции гетерозиса и их согласие с экспериментальными данными. Рассмотрены методы получения дигаплоидных линий и способы их применения в селекции. Недостаточная изученность генетической природы гетерозиса, отсутствие эффективных способов его закрепления и сведения о селекционном потенциале дигаплоидов привели к определению цели исследования – установить основные элементы генетической организации гетерозиса кукурузы для оптимизации процесса дигаплоидной селекции, направленной на создание высокопродуктивных инбредных линий.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дигаплоидные линии производили на основе простых гибридов кукурузы Rf7×Ky123 и МК01×А619. Родительские формы – среднеспелые и среднепоздние линии, родители первого гибрида - полужубовидные линии, второго – зубовидные. Линии Rf7 и МК01 отличаются хорошей продуктивностью, Ky123 – засухоустойчивостью. Урожайность гибрида МК01×А619 составляет 80-100 ц/га в благоприятные годы. У гибрида Rf7×Ky123 урожайность ниже – 60-80 ц/га, но он был выбран для работы из-за высокой эффективности удвоения генома.

Гаплоидные семена получали, опыляя материнские формы пыльцой гаплоидного индуктора, в результате чего часть семян развивается с триплоидным (3n) эндоспермом и гаплоидным зародышем, несущем только материнские гены. Использовали созданные в Институте генетики, физиологии и защиты растений индукторы МНІ и LНІ, дающие частоту гаплоидных семян 5-6% [46] и 10-15% [26] и обладающие маркерной системой *CRnj*, позволяющей идентифицировать гаплоиды по неокрашенному щитку.

Из семян с гаплоидным зародышем получали гаплоидные растения, геном которых удваивали. Чаще всего применялся метод Deimling [7]: у проростков длиной 3-4 см отщипывают кончики и погружают на 12 часов в 0,06% раствор колхицина с добавлением 0,5% DMSO, после чего их отмывают от колхицина и пересаживают в поле. Применяли и беспересадочный метод с обработкой проростков в поле: раствор колхицина концентрации 0,03-0,12% подавали по нитке через прокол, проходящий ориентировочно через точку роста [25]. Использовали также спонтанное удвоение, когда его частота была высокой [19,

33]. Обработанные растения самоопыляли, семейство зерен с одного початка в следующем сезоне размножали и получали генетически однородную дигаплоидную (DH) линию.

Наиболее практичным следует считать метод Deimling и в отдельных случаях - спонтанное удвоение. Линия Rf7 проявила повышенную способность к спонтанному удвоению гаплоидов (6-7%), измеряемому по соотношению числа озерненных початков и взошедших гаплоидных растений. Данная способность наследуется и в гибридах с участием Rf7. У гибрида Rf7×Ky123 частота спонтанного удвоения оказалась особенно высокой, 12-16%. Еще выше (21-22%) частота была в популяциях, где доля генома Rf7 составляла свыше половины [19]. Хотя колхциновое удвоение по Deimling обеспечивает еще более высокую частоту, но спонтанное удвоение менее трудозатратно и позволяет для данных генотипов получить тот же результат при повышенном расходе семян, и его следует рекомендовать в тех случаях, когда лимитирующим фактором является не количество гаплоидных семян, а трудозатраты.

В первом цикле селекции DH-линии производились непосредственно из гибридов F₁ (в комбинации МК01×А619 линии первого цикла получены от доктора хабилитат С.Т. Чалыка). Следующее поколение DH-линий (второй цикл) производилось из генотипов DH×P₁, DH×P₂ или DH×F₁, где символ DH обозначает одну из DH-линий, полученных в первом цикле. Второй цикл выполнялся в разных вариантах, в результате чего получались разные серии (наборы) DH-линий. Аналогично выполнялся третий цикл на основе DH-линий, полученных во втором цикле. Порядок получения циклов и серий изображен на рис. 1.

Дигаплоидные линии испытывались на опытном поле Института генетики, физиологии и защиты растений в период 2003-2019 гг. Растения выращивались без полива, с густотой стояния 2, 3 или 4 раст./м², которая выбиралась в зависимости от почвенно-климатических условий. В разные годы испытания проводились в 2 и 3 повторностях, каждой из которых соответствовал отдельный блок с размещенными рандомизированно испытываемыми вариантами, с числом растений в учетной делянке от 5 до 9 (табл. 1). В каждом блоке среди испытываемых вариантов размещались и контрольные генотипы в двойном объеме (по две делянки на блок).

Генетические исследования проводили по схеме СК-3, в которой испытывались тесткроссы DH-линий с исходными родительскими формами: гибриды DH×Rf7 и DH×Ky123 для линий, происходящих из комбинации Rf7×Ky123 и гибриды DH×МК01 и DH×А619 для линий из комбинации МК01×А619. Тесткроссы испытывались отдельно от

линий, в особом массиве. Схема опытов и условия испытаний – такие же, как для линий (табл. 1).

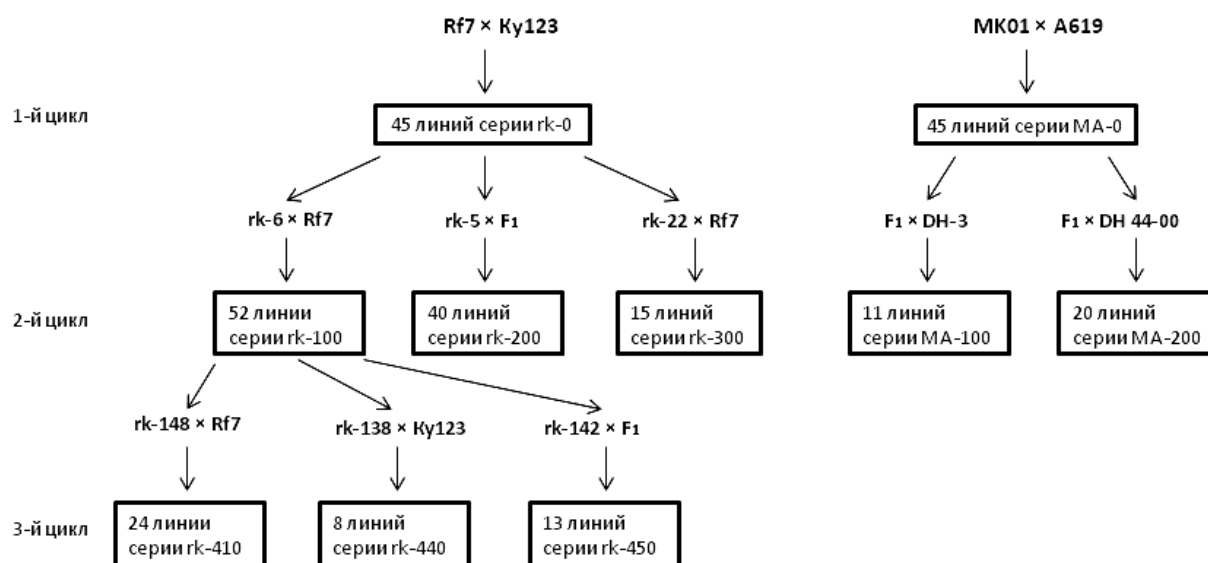


Рис. 1. Схема получения дигамплоидных линий

rk-6, rk-5, rk-22, rk-148, rk-138, rk-142, DH-3, DH 44-00 – дигамплоидные линии, выбранные в соответствующих сериях; F₁ обозначает Rf7×Ky123 в левой части схемы и MK01×A619 - в правой

Таблица 1. Организация полевых испытаний в 2003-2019 годах

Год	2003	2004	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2017	2019
Густота стояния, раст./м ²	4	4	4	4	4	2	4	3	3	3	3
Число повторностей	2	2	2	2	3	2	2	3	2	3	3
Растений в повторности	8	8	8	8	8	6	9	5	6	5	6

У DH-линий, тесткроссов и контрольных форм измерялись или регистрировались **фенологические фазы развития** – интервалы: от сева до цветения метелки, от сева до цветения початка, от цветения метелки до цветения початка (разрыв цветения), от сева до созревания, от цветения початка до созревания; **признаки размера растения**: высота растения, длина стебля, длина метелки, диаметр стебля в нижнем междоузлии и **характерные признаки сухого первого початка** при влажности зерна 10%: процент озерненности, длина, максимальный диаметр, число рядов зерен, масса стержня, масса зерна. В отдельные годы измерялась также масса зерна с нижних початков и рассчитывалась общая зерновая продуктивность. Все признаки измерялись индивидуально для каждого растения.

Для разделения дисперсии на генотипическую и средовую компоненты проводился дисперсионный анализ по иерархической схеме [42]. Окончательные значения средних и дисперсий, полученные после внесения поправок на средовые эффекты, использовали для расчета генетических параметров. В схеме СК-3 сумму доминантных эффектов $\sum d$, знакопеременную сумму аддитивных эффектов $\sum \delta a$ и значимость неаллельных взаимодействий оценивали по объединенному тесту Кавалли [31]. Квадратичные суммы $\sum d^2$ и $\sum a^2$,

среднюю степень доминирования, число локусов, среднее сцепление оценивали разработанными нами методами [39].

Генетические оценки, полученные в схеме СК-3, сравнивали с оценками, полученными при массовом сравнении гибридов и родительских линий в 1990-1994 гг. В 1990 г. испытывались линии Rf7, 23-57B, 23-245/77B, 23-78B, МК01, МК109, W64, W643Т, Р346, Р092, Р502 и 38 гибридов (объединяя реципрокные скрещивания - 28), полученных от этих линий по неполной диаллельной схеме. В 1994 г. этот материал испытан в сокращенном объеме – 8 линий и 10 гибридов. Схема опытов соответствовала испытаниям 2003-2004 гг. для ДН-линий (табл. 1).

В экспериментах по изучению рекомбинации источником мутантных генов служила множественно маркированная линия 2-9м, несущая следующие мутации (в скобках указываем номер хромосомы и локализацию в сМ согласно карте «Genetic» из «Maize genetics and genomics database» [17]):

- p1* (1-70) – белый стержень початка;
- ws3* (2-2) – белые листовые влагалища;
- lg1* (2-13) – безлигульный лист;
- gl2* (2-31) – глянцевые всходы;
- y1* (6-30) – белый эндосперм;
- cl* (9-16) – неокрашенный алейрон;
- sh1* (9-20) – сморщенный эндосперм;
- wx1* (9-48) – восковидный эндосперм;
- R1* (10-95) - окрашенный алейрон (доминантный аллель).

Частота рекомбинации измерялась в гибридах Ку123×2-9м, МК01×2-9м, Rf7×2-9м, А619×2-9м, в поколении F₂(Ку123×2-9м) и в гибридах с участием изогенных линий. Изогенные линии создавались переносом отдельных генов из 2-9м на генетический фон линий Ку123 и МК01 путем беккроссирования в течение 5-7 поколений. Признаки *ws3*, *lg1*, *gl2* определяли на проростках, выращенных в лаборатории, остальные признаки – на сухих зерновках.

3. НЕСМЕЩЕННЫЕ ОЦЕНКИ КВАДРАТИЧНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ У КУКУРУЗЫ

3.1. Оценка средней степени доминирования

Основной параметр, характеризующий генетическую природу гетерозиса – средняя степень доминирования – определяется как отношение суммы доминантных эффектов

всех действующих локусов к сумме аддитивных $\alpha = \Sigma d / \Sigma a$. Из-за невозможности оценить биометрическими методами Σa вместо линейной оценки α применяют квадратичную оценку $\beta = \sqrt{\Sigma d^2 / \Sigma a^2}$. Точнее всего β оценивается в экспериментальной схеме СК-3: анализируются беккроссы $L_i \times P_1$ и $L_i \times P_2$, где L_i – компоненты расщепляющейся популяции L , выведенной из простого гибрида $F_1 = P_1 \times P_2$. Для каждого L_i вычисляются статистики $SUM_i = L_i \times P_1 + L_i \times P_2$ и $DIF_i = L_i \times P_1 - L_i \times P_2$ (среднее значение признака в генотипе обозначается символом самого генотипа). По дисперсиям SUM и DIF оцениваются суммы квадратов аддитивных и доминантных эффектов:

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

а средняя степень доминирования вычисляется по формуле Комстока-Робинсона [6]:

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

Параметр k зависит от типа популяции: $k=2$ для F_2 , $k=4/3$ для F_3 , $k=1$ для набора ди-гаплоидов или рекомбинантных инбредных линий. Подразумевается, что поправки на средовую изменчивость уже вычтены из дисперсий. Формулы применимы к любой бипарентальной популяции, в которой соблюдается симметрия частот, т.е. для любого локуса A частота классов AA и aa одинакова.

Эта оценка справедлива лишь в отсутствие сцепления. Но так как сцепление обычно имеет место, то оценки по Комстоку-Робинсону (1952) получаются завышенными и имеют лишь сравнительную ценность при сопоставлении признаков. Тем не менее они до сих пор используются, так как характеризуют суммарно все локусы, а не только сильнейшие, как в анализе QTL [9, 14]. Можно уменьшить завышение, применяя оценку Комстока-Робинсона к популяции, прошедшей несколько поколений инбридинга. При этом смещение полностью не устраняется, к тому же этот метод требует многолетних экспериментов, которые из-за трудности исполнения остаются уникальными [11, 22].

В данной работе выведены следующие формулы для несмещенных оценок квадратичных параметров, в которых элиминирован эффект сцепления [39]:

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

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

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

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

Здесь a и d – аддитивные и доминантные эффекты локусов, по которым различаются родители P_1 и P_2 , дискретный параметр δ характеризует генотип родителей по локусу i : $\delta=1$,

если данный локус представлен плюс-аллелем (повышающим значение признака) у P_1 и минус-аллелем (понижающим значение признака) у P_2 , и $\delta=-1$ в обратном случае.

Линейные суммы $\sum \delta a$ и $\sum d$ вычисляются по контрольным генотипам, таким, как P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1 , BC_2 , в простейшем случае $\sum \delta a = (P_1 - P_2)/2$, $\sum d = F_1 - (P_1 + P_2)/2$ [31]. Наконец, ρ есть характеристика сцепления, равная $1-2r$ (r – частота рекомбинации между двумя локусами), а $\bar{\rho}$ – ее среднее значение по всем парам локусов, которыми различаются P_1 и P_2 . Если для $\bar{\rho}$ отсутствует прямая оценка, можно подставить в формулы ее наиболее вероятное значение, ожидаемое для случайного распределения действующих локусов по геному (вычисляется отдельно для каждого вида). Для кукурузы вычислены значения: $\bar{\rho} = 0,0485$ для F_2 , $\bar{\rho} = 0,0543$ для удвоенных матроклиных гаплоидов, $\bar{\rho} = 0,0437$ для удвоенных андроклиных гаплоидов, $\bar{\rho} = 0,0366$ для рекомбинантных инбредных линий,.

Используя оценки $\sum d^2$ и $\sum a^2$, получаем формулу для несмещенной оценки средней степени доминирования:

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

Модельная проверка, в которой генерировались разные варианты расположения локусов по геному, показала, что оценка по формуле (3) действительно является несмещенной. В отличие от оценки Комстока-Робинсона, проявляющей регулярное завышение, формула (3) дает завышенные и заниженные значения с равной частотой. Для единичного эксперимента оценка по формуле (3) ненадежна, так как имеет большой разброс, но ее можно применять для ряда экспериментов, выполненных на различном материале. Усредненное по разным экспериментам значение должно адекватно отражать типичную среднюю степень доминирования для данного признака и данного вида.

3.2. Особые случаи расчета степени доминирования

Особый случай представляли популяции второго цикла $rk-100$ и $rk-200$, полученные из генотипов $Rf7 \times rk-6$ и $F_1 \times rk-5$, которые также анализировались по схеме СК-3. В первом случае оценки относятся не ко всем локусам, которыми различаются P_1 и P_2 (то есть $Rf7$ и $Ky123$), а к меньшему числу – к локусам, которыми различаются P_1 ($Rf7$) и линия-предшественник $rk-6$. Во втором случае суммы квадратов рассчитываются по другим формулам, поскольку это поколение прошло через два мейоза [32, 36]:

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

где x – одна из следующих величин: δa , d , $d + \delta a$, $d - \delta a$. Дисперсии σ^2 относятся, соответственно, к SUM , DIF , $DH \times P_1$ и $DH \times P_2$. Значение $\bar{\rho}^2$ следует оценивать отдельно, так как

оно не равно квадрату $\bar{\rho}$. Для удвоенных матроклинных гаплоидов вычислено $\bar{\rho}^2 = 0,0358$.

3.3. Оценка числа генетических факторов

Квадратичные оценки какой-либо величины x можно использовать для оценки числа локусов, влияющих на значение признака по формуле

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

если значения x положительны или в основном положительны и можно принять $\sum x \approx \sum |x|$. В случае равенства всех x эта оценка равна числу слагаемых в сумме, а в случае неравенства ее можно интерпретировать как число главных слагаемых, дающих в сумму основной вклад. Такая оценка практически полезнее, чем точное число всех слагаемых, особенно в тех случаях, когда несколько главных компонент обеспечивают основную часть суммы, а остаток рассредоточен по множеству второстепенных. Такая оценка дает объективный критерий для отделения главных компонент суммы от второстепенных. В предыдущей нашей работе она называлась мерой полигенности [39], здесь будем называть ее также числом основных локусов.

При отчетливом гетерозисе ($F_1 \gg MP$, где MP – среднеродительское значение) можно предполагать в основном однонаправленное доминирование и принять $\sum |d| \approx \sum d$. Подставив d вместо x в формулу (5), получим число локусов, вносящих основной вклад в сумму доминантных эффектов [39]:

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

Если средняя степень доминирования близка к 1, то основной вклад в $\sum(d + \delta a)$ и $\sum(d - \delta a)$ внесут локусы, представленные плюсом-аллелями у родителя P_1 и P_2 , соответственно. Тогда при подстановке $x = d + \delta a$ и $x = d - \delta a$ формула (5) покажет число основных плюсом-аллелей у P_1 и P_2 :

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

В случае неполного доминирования при $\beta \geq 0,7$ можно применять приближенные формулы:

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

где n'_1 и n'_2 – первичные значения, рассчитанные по формулам (7).

Ранее число действующих локусов в схеме СК-3 не оценивали, определяли только в поколениях F_2 и ВС по параметру δa [28], хотя этот показатель менее удобный, чем d , d -

δa и $d+\delta a$, так как редко бывает однонаправленным.

3.4. Экспериментальная оценка степени доминирования

Для 15 признаков в 8 экспериментах рассчитаны смещенные оценки средней степени доминирования по Комстоку-Робинонсу и несмещенные оценки по формуле (3) (табл. 2-3). Из анализа исключена величина значений озерненности початка и продуктивности второго початка, так как у этих признаков распределение асимметрично и существенно отличается от нормального. Для продуктивности (как общей, так и первого початка) смещенные оценки обычно превышают единицу, но это превышение почти всегда исчезает после поправки на сцепление. Это означает, что гетерозис с большей вероятностью объясняется доминантными взаимодействиями (включая неполное доминирование), чем сверхдоминантными [36, 39].

Для гибридной комбинации Rf7×Kyl23 двухфакторный дисперсионный анализ выявил значимые различия в величине β между разными признаками ($F=3,23^{***}$), но не выявил значимого влияния года и взаимодействия признак-год. Анализ показал чувствительность к условиям года сумм квадратов доминантных и аддитивных эффектов, но их отношение $\Sigma d^2 / \Sigma a^2 = \beta^2$ оказалось более устойчивым и для него не выявилось иного источника варьирования, кроме случайной изменчивости. Результаты указывают на то, что у кукурузы доминирование является основным фактором гетерозиса независимо от условий года, которые в наших экспериментах варьировали довольно широко.

Усредненная по всем экспериментам несмещенная оценка β для общей продуктивности равна $0,78 \pm 0,13$, а для продуктивности первого початка $0,65 \pm 0,08$. Первое значение менее надежно, так как вторые початки учитывались не во всех экспериментах. Более надежна оценка для продуктивности первого початка, которая к тому же в нашем случае определяла общую продуктивность в среднем на 90%. Значение для продуктивности первого початка меньше единицы с хорошей значимостью и с большим запасом, что делает общий вывод нечувствительным к погрешностям оценки среднего сцепления $\bar{\rho}$. Вывод о доминировании как об основной причине гетерозиса останется в силе и в том случае, если истинное $\bar{\rho}$ окажется втрое меньше рассчитанного нами значения 0,054.

Примерно в такой же степени выражено доминирование у длины початка, а в гибридной комбинации МК01×А619 – у срока цветения (доминирует раннее цветение - гибрид цветет раньше своих родителей). Довольно высока средняя степень доминирования для интервала цветение-созревание. Таким образом, основной компонент урожайности – длина початка: от генов, контролирующих длину початка, в решающей степени зависит гетерозис. Второй по важности компонент – длительность периода созревания, в течение которого

початок набирает биомассу.

Таблица 2. Оценки средней степени доминирования D^* по Комстоку-Робинсону

Признак	rk-0			rk-100	rk-200		Среднее по Rf7×Ky123	MA-0		Среднее по MK01×A619
	2011	2014	2016	2013	2015	2016		2010	2013	
Интервал от сева до цветения метелки	0,60	0,50	0,48	0,65	0,52	0,54	0,55	0,94	1,05	1,00
Интервал от сева до цветения початка	0,69	0,52	0,42	0,33	0,52	0,52	0,50	1,05	1,46	1,26
Разрыв цветения	0,61	0,37	0,48	0,55	0,32	0,43	0,46	0,49	0,75	0,62
Интервал цветение-созревание	0,78	-	0,84	0,61	0,57	0,74	0,71	0,69	1,16	0,93
Интервал от сева до созревания	0,56	-	0,53	0,46	0,28	0,52	0,47	0,50	0	0,25
Высота растения	0,71	1,18	1,28	0,70	0,43	0,58	0,81	0,65	0,64	0,65
Длина стебля	0,63	1,16	1,26	0,69	0,40	0,56	0,78	0,59	0,58	0,59
Длина метелки	0,85	0,51	0,67	0,83	0,52	0,49	0,65	0,79	1,02	0,91
Диаметр стебля	0,37	0,84	0,76	0,39	0,38	0,40	0,52	0,53	0,52	0,53
Длина початка	1,45	0,89	1,43	0,83	1,15	1,04	1,13	1,04	0,92	0,98
Диаметр початка	0,61	0,72	0,84	0,56	0,49	0,25	0,58	0,94	0,85	0,90
Число рядов зерен	0,52	0	0,55	0,42	0,47	0,41	0,40	0,37	0,55	0,46
Масса стержня початка	0,67	0,72	0,56	0,46	0,70	0,55	0,61	0,49	0,77	0,63
Продуктивность первого початка	1,61	1,11	1,12	0,94	1,07	0,64	1,08	1,32	1,26	1,29
Общая продуктивность	-	1,07	1,65	-	1,14	0,88	1,19	-	-	-

Что касается высокой степени доминирования для срока цветения в комбинации MK01×A619, то это следует считать частной особенностью данной гибридной комбинации. У остальных признаков доминирование выражено слабее. Для некоторых из них поправка на сцепление снижает оценку незначительно, а иногда приводит даже к повышению, что может объясняться только разнонаправленным доминированием.

Несмещенные оценки рассчитывались и по другим источникам. Найдены две работы, в которых проводился генетический анализ признаков кукурузы по схеме СК-3, и где были приведены данные по контрольным формам [9, 14]. В них анализировались гибриды кукурузы B73×H99, F2×Io, F2×F252 и F252×Io. Авторские оценки средней степени доминирования по Комстоку-Робинсону составили для продуктивности 1,18, 1,95, 1,31 и 1,57. После пересчета нашим методом они уменьшились до 0,65, 0,64, 0,80 и 0,87. Таким образом, у 6 гибридов, включая исследованные в наших экспериментах, несмещенные оценки для продуктивности варьируют от 0,64 до 0,87, типичное значение составляет около 0,7. Ранее теория доминирования была подтверждена для 4-х гибридов в экспе-

Таблица 3. Оценки средней степени доминирования β с поправкой на сцепление

Признак	rk-0			rk-100	rk-200		Среднее по Rf7 ×Ky123	MA-0		Среднее по МК01 ×A619
	2011	2014	2016	2013	2015	2016		2010	2013	
Интервал от сева до цветения метелки	0,45	0,35*	0,27*	0,41	0,45	0,43*	0,39	0,79*	0,90	0,85
Интервал от сева до цветения початка	0,55	0,37	0,27*	0*	0,47	0,44*	0,35	0,84	1,08	0,96
Разрыв цветения	0,61	0,30	0,46*	0,54	0,31	0,42*	0,44	0,44*	0*	0,22
Интервал цветение-созревание	0,51	-	0,72*	0,32*	0,36	0,63*	0,51	0,42	0,70	0,56
Интервал от сева до созревания	0,49	-	0,52*	0,46*	0,26*	0,52*	0,45	0,50	0*	0,25
Высота растения	0,40	0,66	0,71	0,40	0	0	0,36	0,31	0,36	0,34
Длина стебля	0,40	0,78	0,79	0,46	0,04	0,17	0,44	0,32	0,36	0,34
Длина метелки	0	0	0,39	0,43	0	0,32	0,19	0,43	0,49	0,46
Диаметр стебля	0,28	0,62	0,81	0,33	0,33	0,38	0,46	0,38	0,33	0,36
Длина початка	1,13	0,48	0,49	0,46	1,02	0,74	0,72	0,77	0,65	0,71
Диаметр початка	0,34	0,08*	0,55	0,16	0,18	0	0,22	0*	0,72*	0,36
Число рядов зерен	0,63	0	0,80	0,42	0,47	0,43	0,46	0,34*	0,54	0,44
Масса стержня початка	0,47	0	0,26*	0,18	0,25	0*	0,19	0,25	0,48	0,37
Продуктивность первого початка	0,99	0,53	0,60	0,43	0,82	0,36	0,62	0,64	0,85	0,75
Общая продуктивность	-	0,64	1,11	-	0,86	0,52	0,78	-	-	-

Примечание. * Доля неаллельных взаимодействий больше 5%.

риментах Молла-Робинсона и Гарднера-Лоннквиста [11, 22], в которых влияние сцепления учитывалось другим способом. Проведенный здесь анализ привел к появлению еще 6-ти оценок: 2-х оценок для гибридов Rf7×Ky123 и МК01×A619 и 4-х оценок, выполненных по литературным данным. В результате число оценок, подтверждающих для кукурузы теорию доминирования, возросло с 4 до 10 при отсутствии оценок противоположного характера. Результат существенно повышает статистическую обоснованность теории доминирования, которая на данный момент не является общепризнанной.

3.5. Анализ неаллельных взаимодействий

Оценки средней степени доминирования, как смещенные, так и несмещенные, подразумевают, что неаллельные взаимодействия отсутствуют, иначе рассчитанные суммы квадратов будут включать в себя и неаллельную компоненту. Поэтому неаллельные взаимодействия были протестированы по тесту Кавалли (табл. 4). Установлено 60 значимых эффектов из 141 возможного. Почти все они реальны, так как случайная вариация может отвечать только за 7-8 из них. Неаллельные эффекты крайне нерегулярны, слабо воспроизводятся по годам, и они, таким образом, слабее, чем взаимодействие генотип-год.

Таблица 4. Доля неаллельных взаимодействий (%) в генетической изменчивости различных признаков кукурузы

Признак	Rf7×Ky123							MK01×A619		
	2009	2010	2011	2013	2014	2015	2016	2009	2010	2013
Интервал от сева до цветения метелки				3,7*	6,7*		10,9**	4,6**	12,5***	
Интервал от сева до цветения початка				7,1*			14,3**		4,1***	3,4***
Разрыв цветения				1,6*			18,0*		14,3*	14,9***
Интервал цветение-созревание				6,8***	-	1,4*	8,2*		1,2*	1,9**
Интервал от сева до созревания				58,0***	-	10,7*	29,3***			18,0***
Высота растения			1,4**			4,6***			1,2**	3,4***
Длина стебля			2,0**			4,9***			1,8***	4,4***
Длина метелки				1,1*		1,4**	1,0***		1,7*	2,0**
Диаметр стебля		1,6**								
Длина початка	7,4*		0,8*	2,1***		1,8*	3,7**			0,8*
Диаметр початка				4,9***	5,1***				9,4***	9,7***
Число рядов зерен			1,1**	2,0***	3,7***	3,2***			14,6***	18,4*
Масса стержня початка	8,4**						8,9***		1,8*	
Продуктивность первого початка				0,8*		1,7*			0,8**	0,3*
Общая продуктивность	-	-	-	-		1,1*		-	-	-

Примечание 1. Неаллельные взаимодействия значимы при $P < 0,05^*$, $P < 0,01^{**}$, $P < 0,001^{***}$.

Примечание 2. Пустая клетка – ноль, прочерк – нет данных.

Разные признаки склонны проявлять неаллельные взаимодействия в разной степени. Очень слабы неаллельные взаимодействия для признаков продуктивности. Чаще всего они незначимы, а если значимы, то с долей влияния не выше 2%. У других признаков початка неаллельные взаимодействия встречаются чаще – примерно в половине случаев, а доля влияния может достигать до 18%. У признаков, характеризующих размеры растения (длина и диаметр стебля, длина метелки, высота растения), неаллельные взаимодействия проявляются слабо, хотя и несколько сильнее, чем для продуктивности: они значимы в 1/3 случаев, а доля влияния не превышает 5%. Максимальные неаллельные эффекты ассоциируются с продолжительностью фенологических фаз развития, но они неустойчивы и сильно зависят от условий года [36].

Сравнение полученных результатов с литературными данными показало, что в нашем материале неаллельные взаимодействия проявляются типичным для кукурузы образом. Для продуктивности кукурузы неаллельные взаимодействия наблюдались редко, чаще они наблюдались для других признаков. Характерна для кукурузы и неустойчивость неаллельных взаимодействий, а также нерегулярность их проявления по годам и повторностям [12, 13, 18].

В нашем случае важно знать, в какой степени неаллельные взаимодействия могут повлиять на оценки степени доминирования. На оценку для продуктивности они существенно влиять не могут из-за низкого их вклада в генетическую изменчивость. Для остальных признаков сравнивались оценки средней степени доминирования, которым сопутствовали как значительные неаллельные взаимодействия, так и незначительные. Существенных различий не замечено, и если исключить из рассмотрения случаи, когда неаллельные взаимодействия были значительными (отмечены в табл. 3), то общие выводы по средней степени доминирования останутся в силе.

3.6. Экспериментальная оценка числа действующих факторов

Для признаков, у которых усредненная по годам средняя степень доминирования превышает 0,7, оценивали число локусов, контролирующих основную часть генетической изменчивости. Это общая продуктивность, продуктивность первого початка, длина початка, а в гибридной комбинации МК01×А619 – также и срок цветения метелок и початков. По приблизительным оценкам, продуктивность у исследованных гибридов контролируется десятками локусов (ориентировочно 30-70), длина початка – несколько меньшим (15-40), а срок цветения метелок и початков в МК01×А619 находится, вероятно, под олигогенным контролем (7-15 локусов). Раздельный учет по родительским формам показал, что вклад родителей в гетерозисный эффект примерно одинаков [36].

Можно сопоставить этот вывод с данными генной экспрессии. В модельном гибриде Мо17×В73 насчитывается 350-700 локусов, где генная экспрессия повышена по сравнению с одним из родителей и которые могут потенциально отвечать за гетерозис [24]. У многих из этих локусов количественный эффект может быть небольшим, и часть из них может влиять не на продуктивность, а на другие характеристики растения. Поэтому наша оценка в несколько десятков локусов выглядит реалистичной.

Чему равна доля, называемая здесь основной частью, зависит от характера распределения эффектов. Самое универсальное выражение для сходящейся убывающей последовательности – гамма-распределение. Это произведение экспоненциальной функции и степенной, в общем случае оно имеет вид $\gamma(x) = \frac{1}{\beta \Gamma(\alpha)} \cdot \left(\frac{x}{\beta}\right)^{\alpha-1} e^{-\frac{x}{\beta}}$, где параметр α отвечает за форму распределения, а β за масштаб. Доля эффектов, которая приходится на первые $\langle n \rangle$ локусов, зависит от α . При α от 0,5 до 1,5 на $\langle n \rangle$ крупнейших эффектов приходится 67% – 90% общей суммы. Проанализировав данные из трех источников [9, 10, 14] по характеру убывания 10 крупнейших доминантных эффектов, мы установили, что эти данные

оптимально усредняются кривой с параметрами $\alpha = 1$ и $\beta = 9$, в результате чего получается экспоненциальное распределение $\gamma(x) = \frac{1}{9}e^{-\frac{x}{9}}$ [36].

Число основных локусов при таком распределении $\langle n \rangle = 18$, на них приходится 86% суммарного эффекта. Несогласие с нашей оценкой 30-70 можно объяснить тем, что в данных работах доминантные эффекты соответствуют не отдельным локусам, а кластерам. Зато константа 86% – сумма по $\langle n \rangle$ основным локусам – не зависит от кластеризации генов, а зависит только от формы кривой. Если убывающая последовательность действительно экспоненциальная ($\alpha = 1$), то на $\langle n \rangle$ основных локусов всегда должно приходиться примерно 86% общей суммы независимо от того, чему равно $\langle n \rangle$ [36].

4. ОЦЕНКА ЛИНЕЙНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И СРЕДНЕГО СЦЕПЛЕНИЯ У КУКУРУЗЫ

4.1. Сопоставление линейных и квадратичных генетических оценок

Квадратичная оценка средней степени доминирования β может быть существенно выше линейной оценки α , если доминантные эффекты разнонаправлены. Линейная и квадратичная оценки связаны равенством $\alpha^2 + \sigma^2(\alpha) = \beta^2$, из которого можно получить нижнюю оценку для α , если имеется верхняя оценка для межлокусной дисперсии $\sigma^2(\alpha)$. Максимальное значение $\sigma^2(\alpha)$ можно оценить по нескольким наблюдениям с небольшим значением параметра $s = \frac{\Sigma d}{\sqrt{\Sigma a^2}}$, для которых $\beta^2 \approx \sigma^2(\alpha)$. Для 5 таких точек с $s < 1$ β составляет 0,42-0,46, т.е. несколько выше 0,4. Эту величину принимаем за верхний предел для $\sigma(\alpha)$. Тогда можно рассчитать интервальные оценки для средней линейной степени доминирования α , коэффициента однонаправленности доминантных эффектов k и числа локусов, отвечающих за основную часть аддитивных эффектов $\langle n \rangle$:

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

Коэффициент однонаправленности определяется как $k = \Sigma d / \Sigma |d|$, он равен 1, когда все эффекты положительны, а в общем случае он равен α / β .

Судя по интервальным оценкам (табл. 5), продуктивность относится к признакам с наиболее выраженным доминированием. Даже если для продуктивности оценивать среднюю степень доминирования по нижней границе, а для остальных признаков – по верхней, то только 2-3 признака можно сопоставить с продуктивностью. Выделяется и ряд других признаков с высокой однонаправленностью доминантных эффектов: в обеих комбинациях это продуктивность, длина початка и интервал цветение-созревание. Для первой комбинации это

также длина метелки, для второй – диаметр початка и интервал от сева до цветения метелок и початков.

Таблица 5. Допустимые диапазоны для линейной степени доминирования α , степени однонаправленности доминантных эффектов k и числа основных локусов $\langle n \rangle$

Признак	Rf7×Ky123			MK01×A619		
	$ \alpha $	k	$\langle n \rangle$	$ \alpha $	k	$\langle n \rangle$
Интервал от сева до цветения метелки	0,13-0,42	0,31-1	13-131	0,75-0,85	0,88-1	7,2-9,2
Интервал от сева до цветения початка	0-0,39	0-1	≥ 12	0,86-0,95	0,91-1	12-15
Разрыв цветения	0,12-0,36	0,28-0,86	1-9,6	0-0,32	0-1	≥ 34
Интервал цветение-созревание	0,45-0,60	0,75-1	12-21	0,38-0,55	0,69-1	34-70
Интервал от сева до созревания	0,22-0,46	0,48-1	1,2-5,1	0,12-0,42	0,28-1	1,8-23
Высота растения	0,03-0,40	0,08-1	49-7200	0-0,34	0-1	≥ 43
Длина стебля	0,19-0,44	0,42-1	29-161	0-0,34	0-1	≥ 33
Длина метелки	0,44-0,60	0,74-1	20-36	0,21-0,45	0,47-1	50-226
Диаметр стебля	0,15-0,43	0,36-1	8-63	0-0,35	0-1	≥ 21
Длина початка	0,68-0,79	0,86-1	18-25	0,55-0,68	0,81-1	17-25
Диаметр початка	0-0,26	0-1	≥ 64	0,41-0,57	0,72-1	24-47
Число рядов зерен	0,21-0,38	0,47-0,83	1-3,2	0,23-0,46	0,5-1	1,5-5,7
Масса стержня початка	0-0,30	0-1	≥ 65	0,14-0,42	0,32-1	27-258
Продуктивность первого початка	0,52-0,66	0,79-1	29-46	0,7-0,81	0,87-1	28-38
Общая продуктивность	0,71-0,82	0,87-1	22-29	-	-	-

Что касается числа локусов, то, судя по данным таблицы, в типичном случае количественный признак контролируется несколькими десятками локусов: нижняя оценка чаще всего больше 10, а большинство верхних оценок меньше 100. Наконец, для числа рядов зерен есть основания предполагать олигогенный контроль (до 6 локусов). К низким значениям $\langle n \rangle$ следует, впрочем, относиться с осторожностью, потому что они относятся к сроку созревания и числу рядов зерен – к тем признакам, в проявлении которых значительна доля неаллельных взаимодействий [36].

4.2. Нормированный гетерозис как характеристика признаков

Для генетического анализа можно использовать также данные сравнения гибридов и родителей, какие получают, например, в диаллельных схемах. Для такого сравнения нами введена величина, названная *нормированным гетерозисом* и равная $S = D/A$, где D – средний гетерозис (превышение гибрида над среднеродительским значением), A – средняя полуразность между родителями, вычисленная как среднеквадратичная [38]. Математический анализ показал, что для достаточно представительной группы гибридов, полученных от случайно подобранных родителей, довольно точно выполняется равенство $S = \alpha\sqrt{n}$, где α – средняя линейная степень доминирования в локусах, контролирующих гетерозис по данному признаку, n – среднее число таких локусов в отдельном гибриде, которое может быть занижено из-за сцепления и фактически равняться числу кластеров. Тем не менее соседние гены не обязательно должны распределяться по линиям генетической коллекции как сцепленные,

если эти линии не являются потомками одной гетерозиготной особи. Поэтому следует ожидать, что искажение, вносимое сцеплением, должно быть меньше, чем в расщепляющихся поколениях. Если влияние сцепления существенно, оно должно проявляться в систематическом снижении нормированного гетерозиса S по сравнению с оценками s в схеме СК-3 [38].

В табл. 6 сопоставлены значения s , полученные в схеме СК-3, и значения S , полученные при анализе трех групп гибридов. Это 28 гибридов, испытанных в 1992 году, 10 гибридов, испытанных в 1994 году [38] и 47 гибридов, испытанных в работе Li et al. [15]. Регулярного снижения S относительно s не наблюдается, для показателей продуктивности наблюдается даже регулярное завышение: от 3,5-4,3 в схеме СК-3 до 7,4-8,1 в группах. Вероятно, это объясняется нарушением случайности при подборе гибридов: в группу могли быть сведены гибриды, полученные от лучших родителей, что привело к занижению контрастности линий по сравнению со статистически ожидаемой и завысило значения нормированного гетерозиса.

4.3. Оценка среднего сцепления между действующими локусами

Полученные оценки средней степени доминирования, числа действующих локусов и однонаправленности доминантных эффектов основывались на значении среднего сцепления $\bar{\rho} = 0,054$, вычисленного теоретически для случайного распределения действующих локусов. Для проверки справедливости этого допущения выполнили интервальную оценку ρ по дисперсиям DIF в поколениях rk-0 и rk-200 [32].

Таблица 6. Сравнение нормированного гетерозиса в группах гибридов и в схеме СК-3

Признак	s в схеме СК-3		S в группах гибридов		
	Rf7×Ky123	MK01×A619	1992	1994	Li et al. (2018)
Интервал от сева до цветения метелки	-1,51	-2,26	-1,80		-2,27
Интервал от сева до цветения початка	-1,38	-3,30	-1,17		-2,63
Разрыв цветения	-0,36	-1,84	0,30		-0,85
Интервал цветение-созревание	2,04	3,22	-0,35		
Интервал от сева до созревания	0,50	0,56	-0,74		
Высота растения	2,80	2,25	2,31	2,71	5,24
Длина стебля	2,38	1,98	2,00		
Высота верхнего початка			2,03		4,29
Длина метелки	2,65	3,20	2,16		
Диаметр стебля	1,22	1,62			
Длина початка	3,38	2,78		3,84	2,61
Диаметр початка	2,11	2,81		2,62	2,94
Число рядов зерен	0,38	0,56		1,42	0,68
Масса стержня початка	2,41	2,20	2,12	6,35	3,90
Продуктивность первого початка	3,56	4,32	7,71	7,96	7,46
Общая продуктивность	3,85		7,42	8,11	

Приравняв выражения для $\sum d^2$ в формулах 2.2 и 4, получаем после преобразований

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

где σ_1^2 и σ_2^2 - дисперсии функции *DIF* в сериях гk-0 и гk-200, $D=\Sigma d$. Так как $\bar{\rho}^2 \geq (\bar{\rho})^2$, можно вычислить для $\bar{\rho}$ минимальную оценку при $\bar{\rho}^2 = (\bar{\rho})^2$: $\bar{\rho}_{min} = \frac{3\sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}{2D^2 - 2\sigma_1^2}$.

Из формулы 2.2 вытекает максимальная оценка $\bar{\rho}_{max} = \frac{\sigma_1^2}{D^2}$

Ошибка $\bar{\rho}$ будет тем меньше, чем меньше будут дисперсии относительно D^2 . Поэтому для оценки $\bar{\rho}$ отобрали 8 признаков с наименьшими отношениями σ_1^2/D^2 и σ_2^2/D^2 . В табл. 7 представлены конечные результаты вместе с использованными в расчетах промежуточными величинами. Для отдельного признака эти оценки ненадежны, потому что основаны на разности дисперсий, поэтому результаты были усреднены. Итоговая оценка от 0,043 до 0,079 характеризует среднее распределение локусов, контролирующих разные признаки. Такое усреднение отчасти оправдано тем, что наборы действующих локусов для разных признаков должны частично совпадать, потому что один локус может влиять на ряд признаков. С другой стороны, для отдельных признаков возможны частные особенности распределения, которые не были обнаружены.

Рабочее значение $\bar{\rho} = 0,054$, которое использовалось в расчетах, находится внутри найденного диапазона 0,04-0,08, так что предположение о случайном распределении действующих локусов согласуется с полученными данными. Поскольку теперь известен диапазон, в котором может находиться истинное значение $\bar{\rho}$, можно при необходимости рассчитать верхние и нижние пределы для сделанных ранее оценок степени доминирования. Но на вывод о преобладающей роли доминирования в эффекте гетерозиса это не повлияет. Этот вывод потеряет силу только при $\bar{\rho} < 0,018$, что гораздо ниже минимальной оценки [36].

Таблица 7. Расчет среднего сцепления по доминантным эффектам в 2016 Г.

Признак	σ_1^2	σ_2^2	D	ρ_{min}	ρ_{max}
Диаметр початка, мм	4,90	1,07	7,33	0,106±0,040	0,91±0,024
Масса стержня початка, г	23,0	8,73	18,3	0,055±0,032	0,069±0,018
Высота растения, см	126,6	47,1	40,6	0,063±0,035	0,077±0,020
Длина стебля, см	99,7	39,1	33,7	0,069±0,041	0,088±0,023
Продуктивность первого початка, г	635,9	387,1	92,6	0,023±0,039	0,074±0,019
Длина початка, см	1,550	1,566	5,05	-0,034±0,040	0,061±0,016
Длина метелки, см	3,94	2,60	7,04	0,016±0,043	0,079±0,021
Общая продуктивность, г/раст.	1132	588,6	110,5	0,047±0,047	0,093±0,024
Среднее				0,043±0,015	0,079±0,004

Ранее в биометрической генетике способов оценки среднего сцепления не существовало, были лишь способы его тестирования: установить, оказывает ли сцепление значимое влияние на генетические оценки [31], а так как сцепление обычно имеет место и влияние его существенно, то информативность такого тестирования невелика.

4.4. Рекомбинация на гомозиготном фоне

Ожидаемое среднее сцепление $\bar{r} = 0,054$ вычислено по рекомбинационным данным, которые получены для состояния с высокой гетерозиготностью. В нашей селекционной схеме предусмотрено, однако, применение скрещиваний с разной степенью гетерозиготности, поэтому важно выяснить, как при этом изменяется частота рекомбинации. Связь между частотой рекомбинации (rf) в маркированных сегментах генома с гомо- и гетерозиготностью была замечена сначала в $F_2(Ky123 \times 2-9m)$, где $2-9m$ – множественно маркированная мутантная линия [41]. Обнаружилось, что rf в маркированных сегментах зависит от аллельного состояния соседнего маркерного локуса. Если он гетерозиготен, то rf принимает в среднем обычное значение, типичное для F_1 и соответствующее рекомбинационному расстоянию на генетических картах. Но если соседний локус гомозиготен, неважно по какому аллелю – мутантному или нормальному, то rf в маркированном сегменте повышается: в сегменте $ws3-lg1$ в 1,77 раза, в сегменте $c1-sh1$ в 1,58 раза, в сегменте $sh1-wx1$ в 1,28 раза, и только в сегменте $lg1-gl2$ превышение было незначимым – в 1,05 раза. Это эффект повторился два года подряд.

У изученных растений поколения F_2 генотип был мозаичный: отчасти гетерозиготный, отчасти гомозиготный. Было решено проверить, до каких пределов может пойти увеличение rf при максимальной гомозиготности, когда гетерозиготным остается только маркированный сегмент. Для этого маркерные локусы были переведены на генетический фон линий $Ky123$ и $MK01$ путем многократного беккроссирования, в результате получено 8 линий: $M(lg,gl)_6$, $K(lg,gl)_6$, $M(c,sh,R)_6$, $K(c,sh,R)_7$, $M(R)_7$, $K(R)_7$, $M(sh,wx)_7$, $K(sh,wx)_5$.

Начальные буквы M и K означают $MK01$ и $Ky123$, в скобках указаны перенесенные мутации (для краткости без номеров), цифровой индекс означает число поколений беккроссирования. Вместе с аллелем $c1$ пришлось перенести и доминантный аллель $R1$, чтобы проявлялась антоциановая окраска зерен и можно было наблюдать расщепление по $c1$. Линии, содержащие мутацию $ws3$, создать не удалось, потому что при попытке внедрить эту мутацию в $MK01$ и $Ky123$ сильно снижалась их жизнеспособность и продуктивность.

Частоту рекомбинации на гомозиготном фоне наблюдали в 2017 году в генотипах $MK01 \times M(lg,gl)_6$, $Ky123 \times K(lg,gl)_6$, $M(R)_7 \times M(c,sh,R)_6$, $K(R)_7 \times K(c,sh,R)_7$, $MK01 \times M(sh,wx)_7$, $Ky123 \times K(sh,wx)_5$. Для контроля определяли частоту рекомбинации на гетерозиготном фоне в генотипах $Ky123 \times M(lg,gl)_6$, $MK01 \times K(lg,gl)_6$, $K(R)_7 \times M(c,sh,R)_6$, $M(R)_7 \times K(c,sh,R)_7$, $M(sh,wx)_7 \times Ky123$, $MK01 \times K(sh,wx)_5$.

Частоту рекомбинации проверяли отдельно в микро- и мегаспорогенезе, то есть в метелках и початках, тестерами служили соответствующие изогенные линии. Результаты, представленные в таблице 8, свидетельствуют о том, что если на гетерозиготном фоне

частота рекомбинации примерно совпала с ожидаемой по генетическим картам, то на гомозиготном фоне она возросла примерно вдвое. В последней строке таблицы 8 приведено отношение rf на гомозиготном фоне (среднее между МК01 и Ку123) к rf на гетерозиготном фоне (среднее между прямым и обратным гибридом). Соотношение гомо/гетерозиготность варьировало от 1,67 до 2,54 в зависимости от сегмента и пола [36].

Эффект гомозиготного фона может расширить доступную рекомбинационную изменчивость. У кукурузы много генов сосредоточено в прицентромерных участках хромосом, где они между собой очень слабо рекомбинируют. Но их можно разделять в поздних поколениях инбридинга, когда генетическое окружение станет в значительной мере гомозиготным. Эффект гомозиготного фона, вероятно, наблюдал в свое время Аллард (1963) на лимской фасоли [1], где велась дивергентная селекция на изменение rf . Селекция была доведена до F_5 , и отбор в плюс-направлении привел к повышению частоты рекомбинации в трех маркированных сегментах, тогда как отбор в минус-направлении оказался безрезультатным. Этот результат хорошо объясняется эффектом гомо- и гетерозиготности, хотя автор объяснял его иначе.

Таблица 8. Частота рекомбинации на гомо- и гетерозиготном фоне в 2017 г.

Генетический фон	rf ($lg1-gl2$), %		rf ($c1-sh1$), %		rf ($sh1-wx1$), %	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
МК01	27,6±1,4	26,8±1,6	9,8±1,2	10,9±0,9	38,4±0,5	30,2±1,1 ***
Ку123	34,3±0,9	42,4±1,3 **	9,6±0,3	10,1±1,1	36,8±1,3	37,0±1,1
МК01×Ку123(изо)	17,2±0,3	16,7±0,7	5,3±0,2	5,2±0,3	16,9±0,5	15,3±0,6
Ку123×МК01(изо)	19,9±0,9	18,8±0,8	5,8±0,3	5,2±0,3	16,7±0,8	11,2±0,7 **
Ожидаемое значение по генетической карте	15,1	15,1	3,8	3,8	21,4	21,4
гомо/гетеро	1,67	1,95	1,76	2,01	2,34	2,54

1. В последней строке для случая $sh1-wx1$ применено обратное скрещивание: МК01(изо)×Ку123.
2. Значимость эффекта пола ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$.

По нашему предположению [41], в гетерозиготном участке подавляется кроссинговер, и чем он длиннее, тем сильнее подавление во всех составляющих его сегментах. Что касается частоты обменов в гомозиготных участках, то она стабильно высокая и равна пределу, к которому стремится rf в гетерозиготных участках при их сокращении. По предположению Циолковского и др. [29], которые наблюдали похожий эффект на арабидопсисе, в мозаичных генотипах, где чередуются гомо- и гетерозиготные участки, происходит перераспределение обменов из гомозиготных участков в гетерозиготные, а общая по геному частота обменов не меняется.

Независимо от того, какое объяснение справедливо, можно считать установленным, что в мозаичных генотипах кукурузы, где чередуются гомо- и гетерозиготные участ-

ки, в гетерозиготных участках rf выше, чем в F_1 , и это надо учитывать в расчетах дисперсий количественных признаков. В нашем случае это надо учитывать при расчете квадратичных оценок в сериях $rk-100$ и $rk-200$, так как эти серии получены из генотипов со сниженной гетерозиготностью. Пропорции повышения rf (а значит, и снижения ρ) были приблизительно оценены по данным четырех маркированных сегментов в поколениях F_1 и F_2 гибрида $Ky123 \times 2-9m$. После пересчета значения средней степени доминирования для серий $rk-100$ и $rk-200$ в табл. 3 несколько повысились: в среднем на 0,02, максимум на 0,07. Пересчитанные значения средней степени доминирования остаются ниже единицы, поэтому вывод о преобладающей роли доминантных взаимодействий в эффекте гетерозиса остается в силе [36].

На интервальную оценку среднего сцепления эффект гомо- и гетерозиготности влияет незначительно. Верхняя оценка останется прежней, но она будет относиться к среднему сцеплению ρ_1 в $F_1(Rf7 \times Ky123)$. При выводе нижней оценки $\bar{\rho}^2$ заменится на $\bar{\rho}_1 \cdot \bar{\rho}_2$, где ρ_2 - сцепление в $F_1 \times rk-5$, а неравенство $\bar{\rho}^2 \geq (\bar{\rho})^2$ заменится на неравенство $\bar{\rho}_1 \cdot \bar{\rho}_2 \geq 0$, что приведет к формуле $\bar{\rho}_{1min} = \frac{3\sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}{2D^2 + \sigma_1^2 - 4\sigma_2^2}$. Расчет по новой формуле дает почти такой же результат: $\bar{\rho}_{1min} = 0,040 \pm 0,014$.

5. ВОЗМОЖНОСТИ ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ У КУКУРУЗЫ

5.1. Схема обогатительно-восстановительной селекции

Из результатов генетического анализа следует, что дигаплоидная селекция должна быть эффективной для создания инбредных линий с высокой продуктивностью, поскольку за гетерозис у кукурузы отвечают такие эффекты, которые могут проявлять свое действие и в гомозиготе. Для фиксации в гомозиготе возможно большего числа отвечающих за гетерозис плюс-аллелей нами разработана схема обогатительно-восстановительной дигаплоидной селекции со следующим чередованием циклов [35]:

1-й цикл. Из гибрида F_1 производится набор ДН-линий, из них отбирается лучшая по продуктивности. В разных линиях соберется разное число плюс-аллелей, в лучшей линии должно собраться более половины от общего количества.

2-й цикл (обогатительный). Лучшая линия из предыдущего цикла скрещивается с F_1 и из потомства производится набор ДН-линий. Цикл приводит к обновлению генома в среднем на четверть. У средней линии четверть собранных в предыдущем цикле плюс-аллелей будет потеряна, вместо них будут получены новые. У лучшей линии потеряно будет меньше, приобретено больше. Цикл называем обогатительным, потому что геном обогащается новыми

плюс-аллелями.

3-й цикл (восстановительный). Предназначен для полного или частичного возвращения плюс-аллелей, утраченных в предыдущем цикле. Лучшая линия второго цикла скрещивается с лучшей линией первого цикла, из гибрида выводится набор ДН-линий. У средней линии будет возвращена половина плюс-аллелей, утраченных во втором цикле и будет утрачена половина вновь приобретенных. У лучшей линии возвращено будет больше, утрачено меньше.

Далее продолжается чередование обогатительных циклов (четных) и восстановительных (нечетных). В обогатительном цикле под номером k лучшая ДН-линия из цикла $k-1$ скрещивается с F_1 , из потомства выводится набор ДН-линий. В восстановительном цикле под номером $k+1$ лучшая линия из цикла k скрещивается с лучшей линией из цикла $k-1$. Из гибрида выводится набор ДН-линий, лучшая из них отбирается для участия в следующих двух циклах. Селекцию можно вести до тех пор, пока не остановится селекционный прогресс, измеряемый по продуктивности лучших линий восстановительных циклов. Конечным результатом является лучшая линия, полученная в последнем восстановительном цикле.

5.2. Модельные испытания различных схем дигаплоидной селекции

Схемы закрепления гетерозиса в дигаплоидной селекции предложили также Струнников [45] и Гончарова [30]. Схема Струнникова отличается от нашей отсутствием восстановительных циклов. В схеме Гончаровой предполагается в каждом цикле отбирать две высокопродуктивные и контрастные по молекулярным маркерам ДН-линии, и из гибрида между ними получать дигаплоиды следующего цикла.

В компьютерном моделировании проверена эффективность всех трех схем. Заданы параметры: в каждом цикле 50 ДН-линий, число генов – 20, 50 и 100, их эффекты равны, неаллельные взаимодействия отсутствуют. Число хромосом и их рекомбинационная длина – как у кукурузы. Благоприятные аллели распределяются случайным образом как между родителями, так и по геному, перед каждой имитацией распределение определялось заново. В каждом варианте проводилось 100 имитаций семи циклов селекции. Схема Гончаровой испытывалась в трех вариантах: из 50 ДН-линий отбирались 5, 10 или 15 самых продуктивных, среди которых находили самую контрастную пару. Контрастность определяли по генотипу действующих локусов. Модельные испытания доводились до 7-го цикла (табл. 9).

Во всех вариантах, за исключением общего для всех схем первого цикла, схема Струнникова проявила более низкие результаты, чем схема Гончаровой. Начиная с пятого

цикла схема Струнникова заметно отстает по результатам и от обогатительно-восстановительной схемы. Из испытанных вариантов схемы Гончаровой при кратких сроках селекции наиболее эффективным оказался вариант 5/50, при длительных – 10/50. Данные варианты имеют некоторое преимущество над обогатительно-восстановительной схемой, которое уменьшается с ростом числа локусов и циклов и исчезает при 100 локусах и 7 циклах. Следует, однако, иметь в виду, что схема Гончаровой смоделирована с упрощением: вместо контрастности по молекулярным маркерам рассматривалась контрастность по селекционно значимым локусам, что, несомненно, привело к завышению результатов. Следует также учесть, что схема Гончаровой опирается на молекулярное генотипирование. Если молекулярное генотипирование применять и в обогатительно-восстановительной схеме, то от нее следует ожидать большей результативности, так как это приведет к более рациональному выбору линии-предшественника при выполнении очередного цикла.

Таблица 9. Эффективность различных методов дигиплоидной селекции: доля (%) плюс-аллелей, собранных в наиболее продуктивной ДН-линии

Вид модели	Число локусов	Номер цикла							Безвозвратно потеряно
		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	
Обогатительно-восстановительная	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, отбор 5 линий из 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, отбор 10 линий из 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, отбор 15 линий из 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

Рассмотрим динамику селекционного прогресса. В схеме Гончаровой положительная динамика прослеживается вплоть до 7-го цикла, но к последнему циклу данный метод близко подошел к пределу своих возможностей: большинство из плюс-аллелей, недостающих для полного закрепления гетерозиса, оказались безвозвратно потерянными (табл. 9). Такие потери случаются, когда в отобранных контрастных линиях отсутствуют одни и те же плюс-аллели. Они будут отсутствовать и во всем потомстве данной пары линий, во всех следующих циклах. В других схемах потери не являются безвозвратными: любой

недостающий аллель может вернуться в обогатительном скрещивании с F_1 . Лимитирующим фактором здесь является не уровень безвозвратных потерь, а достижение равновесия, когда приобретает новых плюс-аллелей столько же, сколько теряется. В схеме Струнникова равновесие достигается к 4-5 циклу. В обогатительно-восстановительной схеме равновесие к 7-му циклу еще не достигнуто, и данная схема имеет наилучшие перспективы для дальнейшего продолжения селекционного процесса.

Соотношение величин в табл. 9 с продуктивностью F_1 зависит от средней степени доминирования d/a . Для воспроизведения в инбредной линии продуктивности F_1 доля собранных плюс-аллелей должна составлять $(1+d/a)/2$, что при наиболее вероятном для кукурузы значении $d/a=0,7$ составляет 85%. При наиболее вероятном числе локусов $n=50$ в обогатительно-восстановительной схеме и схеме Гончаровой в седьмом цикле достигается почти полное закрепление гетерозиса: в лучшей дигаплоидной линии собираются 80-84% плюс-аллелей. В схеме Струнникова в 7-м цикле собираются 76% плюс-аллелей, что соответствует промежуточной продуктивности между F_1 и F_2 .

5.3. Дигаплоидная селекция в гибридной комбинации $Rf7 \times Ky123$

В гибридной комбинации $Rf7 \times Ky123$ проведено три цикла дигаплоидной селекции [40]. 44 линии первого цикла (серия $rk-0$) произведены непосредственно из F_1 . Испытывались они с 2009 по 2017 год, в последнем году испытание было самое полное. Во все годы среднее значение продуктивности в серии примерно совпадало со значением худшего родителя $Ky123$ (в 2017 г. не представлен), около половины ДН-линий имели продуктивность ниже, чем у $Ky123$, но редкие линии достигали или превышали значение лучшего родителя $Rf7$. Лучшая линия первого цикла, $rk-5$, на 8,3% превысила в 2017 г. по продуктивности $Rf7$ (табл. 10, рис. 2).

Таблица 10. Испытание ДН-линий в гибридной комбинации $Rf7 \times Ky123$ в 2010-2019 гг.

Номер цикла	Серия и год	Число испытанных линий	Из них $>Rf7$	Продуктивность первого початка, г			
				$Rf7$ (контроль)	среднее по всем линиям	Диапазон	лучшая линия относительно $Rf7$
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%

Второй цикл был выполнен в трех вариантах (рис. 1). Самая продуктивная линия rk-5 была скрещена с F₁ и из этого гибрида получена 40 линий серии rk-200. Другие предшественники, rk-6 и rk-22 были выбраны не по продуктивности *per se*, а по комбинационной способности, которую они проявили в тесткрассах с Rf7. Из тесткроссов rk-6×Rf7 и rk-22×Rf7 произведены серии rk-100 (52 линии) и rk-300 (15 линий). Во втором цикле удачными оказались серии rk-100 и rk-200, показавшие в 2017 г. примерно одинаковый прогресс как по среднему значению в серии, так и по продуктивности лучшей линии. Наиболее высокая продуктивность отмечена у линий rk-142, rk-225, rk-228 и rk-239. Особого внимания заслуживает линия rk-206, совмещающая засухоустойчивость с примерно такой же продуктивностью, как у линии Rf7.

Третий цикл также выполнен в трех вариантах. Все предшественники взяты из серии rk-100. По комбинационной способности выбраны линии rk-148 и rk-138, по продуктивности *per se* - rk-142. Из генотипов rk-148×Rf7, rk-138×Ky123 и rk-142×F₁ произведены серии дигаплоидных линий rk-410 (24 линии), rk-440 (8 линий) и rk-450 (13 линий). Первые две серии испытаны в 2017 году, последняя серия – в 2019 году (табл. 10, рис. 2). Судя по продуктивности контрольных форм Rf7 и F₂(Rf7×Ky123), условия 2017 и 2019 годов были близки, поэтому результаты представлены на одной диаграмме.

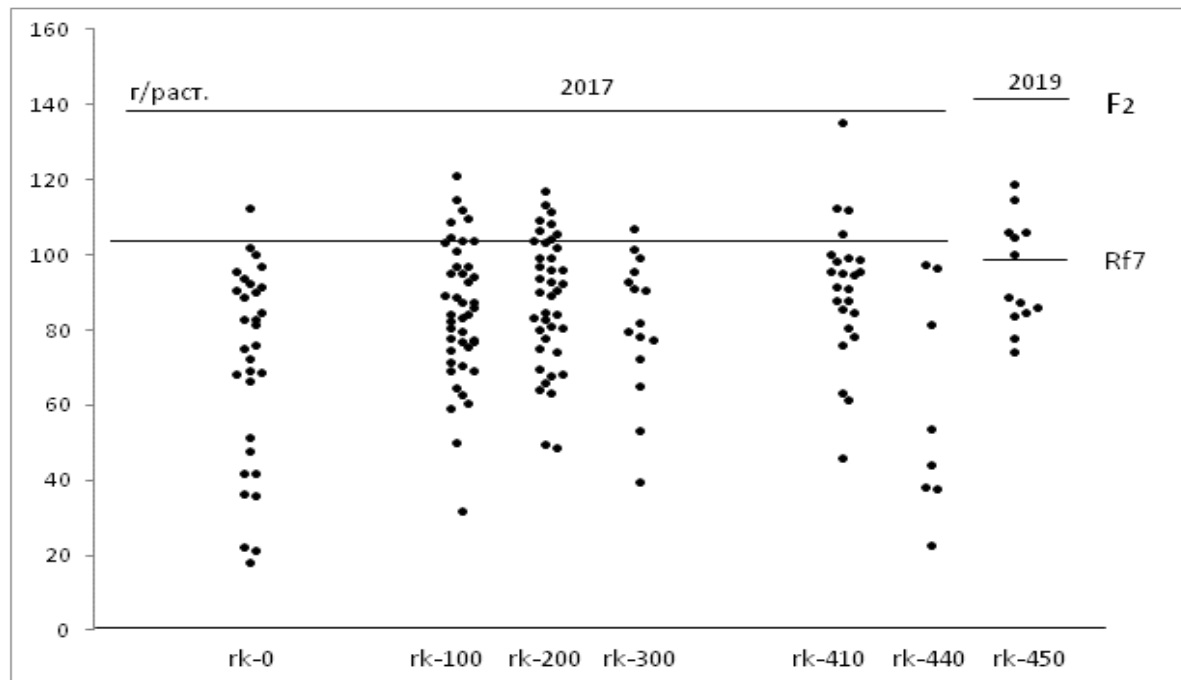


Рис. 2. Сравнение всех rk-серий по продуктивности первого початка

Удачными оказались серии rk-410 и rk-450. Последняя серия оказалась рекордной по средней продуктивности (относительно контроля), а лучшая линия в серии, rk-459, проявила продуктивность на уровне лучших линий второго цикла. Но самая продуктивная

линия третьего цикла оказалась в серии гк-410. Это линия гк-433, проявившая в 2017 году продуктивность 135,6 г/раст., что на 30,5% превысило значение лучшего родителя Rf7 и близко подошло к продуктивности поколения $F_2(Rf7 \times Ky123)$. Данный результат воспроизвелся и в 2019 г. в увеличенной выборке: 129,5 против 100,0 у Rf7. Темп селекционного прогресса составил, таким образом, 10% за цикл.

Результат показывает, что в дигаплоидной селекции можно с успехом применять такие приемы, которые в рекуррентной селекции были бы рискованными. Если в рекуррентной селекции продвинутый вариант скрестить с исходным материалом с целью вернуть пропавшие благоприятные аллели, это привело бы не к прогрессу, а к регрессу, так как накопленная частота благоприятных аллелей вернулась бы к исходному уровню, вернулись бы исключенные неблагоприятные аллели, и селекцию пришлось бы начинать сначала. Результат показывает также, что целесообразнее вести ступенчатую селекцию, пусть и с небольшим числом вариантов в каждой ступени, чем искать наилучший вариант в многочисленном первом цикле. Трехступенчатая селекция потребовала испытания всего 118 линий: 44 в серии гк-0, 50 в серии гк-100 и 24 в серии гк-410.

В третьем цикле продуктивность приблизилась к уровню F_2 , и следует ожидать, что уже в четвертом цикле этот уровень будет превзойден. Модельная имитация дает благоприятный прогноз на ближайшие циклы, хотя достижение уровня F_1 вряд ли возможно. Но если будут получены инбредные ДН-линии, занимающие по продуктивности промежуточное положение между F_1 и F_2 , то возделывание таких линий вместо гибридов F_1 может оказаться оправданным за счет облегченного семеноводства.

5.4. Частные случаи генетической изменчивости в гибридной комбинации Rf7×Ky123

Когда гены двух исходных линий комбинируются в дигаплоидах, то у растений могут появляться такие признаки и свойства, которые у исходных линий не наблюдаются или наблюдаются редко и в ослабленной форме. Если такие явления проявляют дискретность на уровне серий, то есть типичны для одних серий и нетипичны для других, то это означает, что данное свойство контролируется небольшим числом генов, поскольку оно легко теряется или приобретает.

Для ряда линий характерна низкая озерненность початка, и частота таких линий различна для разных серий. По данным 2017-19 гг., частота линий со средней озерненностью ниже 80% составила 11/31 (серия гк-0), 4/43 (серия гк-100), 1/40 (серия гк-200), 2/15 (серия гк-300), 2/24 (серия гк-410), 5/8 (серия гк-440), 0/13 (серия гк-450) [36].

Другая аномалия – расщепление верхушки початка (рис. 3). Как правило, она охва-

тывает не все початки в линии, из чего можно заключить, что ее проявление зависит не только от генотипа, но и от условий. Средняя степень ее выраженности различается в разных линиях. Она слабо проявляется у линии Rf7 и никогда не проявляется у линии Ky123. В первом цикле она наблюдалась только у линии rk-21, но в следующих циклах наблюдалась довольно часто, особенно в сериях rk-100 (19/52), rk-300 (7/15) и rk-410 (9/24). Реже она встречалась в сериях rk-200 (7/40), rk-440 (1/8) и не встречалась в серии rk-450. Данная аномалия, видимо, связана с избыточной пролиферацией цветочной меристемы, так как ей сопутствует повышенное число рядов зерен [36].

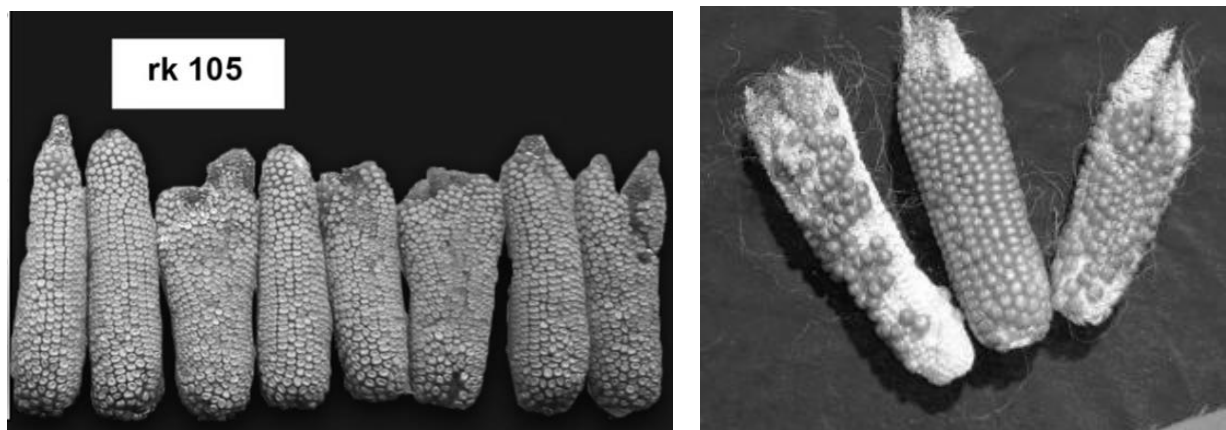


Рис. 3. Аномалия верхушки початка
(справа - мутация *dbcb1*, фото из MNL, 83, p.19)

Из известных мутаций, связанных с подобным фенотипом (*ra1*, *ra2*, *ra3=fea4*, *fea1*, *fea2*, *fea3*, *td1*, *dbcb1* [17]), к нашему случаю лучше всего подходит мутация *dbcb1*, описанная Брюбейкером в 2009 году [4] (рис. 3). Эта единственная мутация из списка, которая затрагивает только початок и не вызывает сопутствующих изменений в морфологии метелки и растения. Вероятно, ее источник - линия Rf7, так как данная мутация совершенно не проявляется в тесткроссах с Ky123, но зато проявляется в тесткроссах с Rf7. Судя по всему, Ky123 несет доминантный нормальный аллель, а Rf7 – рецессивный мутантный. Слабая выраженность мутации у Rf7, на наш взгляд, лучше всего объясняется теорией компенсационного комплекса генов, согласно которой у мутантов со временем формируется комплекс генов-супрессоров, которые ослабляют действие неблагоприятной мутации или вообще его устраняют [44]. Вероятно, у линии Rf7, кроме мутации, имеются супрессоры, отсутствующие у Ky123. При рекомбинировании генов в ДН-линиях распадается компенсационный комплекс, поэтому мутация, попав в дигаплоид, проявляется в нем в полной степени. Возможно, что с распадом компенсационного комплекса связаны и случаи низкой озерненности початка.

Еще один признак, варьирующий по сериям – развитие второго початка. Для одной из

исходных родительских форм (Ky123) характерно развитие второго початка, на который в среднем приходится около 20% общей продуктивности. У другой формы (Rf7) второй початок обычно не развивается. Что касается дигаплоидных линий, то в 4-х сериях (rk-0, rk-100, rk-200 и rk-440) наблюдается разнообразие по этому признаку. У многих линий второй початок отсутствует, но есть линии, где второй початок дает заметный вклад в продуктивность – до 1/3. В среднем в этих сериях на долю второго початка приходится 6-9% общей продуктивности, но в сериях rk-300, rk-410 и rk-450 второй початок исчезает почти полностью. Из этого следует, что способность к развитию второго початка контролируется небольшим числом генов, поскольку она легко теряется [36].

5.5. Дигаплоидная селекция в гибридной комбинации МК01×А619

Во второй гибридной комбинации – МК01×А619 было проведено два цикла селекции [40]. 45 ДН-линий первого цикла, произведенных из F₁ (серия МА-0), испытаны в 2003, 2004 и 2013 гг. Результаты примерно совпали с результатами первого цикла в гибридной комбинации Rf7×Ky123: около половины линий уступали по продуктивности худшему родителю А619, и только немногие линии достигали или незначительно превышали уровень лучшего родителя МК01 (табл. 11).

Таблица 11. Испытание ДН-линий в гибридной комбинации МК01×А619 в 2003-2016 гг.

Номер цикла	Серия и год	Число испытанных линий	Из них >МК01	Продуктивность первого початка, г			
				МК01 (контроль)	среднее по всем линиям	Диапазон	лучшая линия относительно МК01
1	МА-0 (2003)	40	0	119,4	54,1	0,3-108,3	-9,3%
	МА-0 (2004)	41	2	104,3	57,7	1,2-109,3	+4,8%
	МА-0 (2013)	30	1	120,2	70,4	1,8-124,7	+3,7%
2	МА-100 (2013)	11	0	120,2	82,3	46,7-113,4	-5,7%
	МА-100 (2016)	7	0	101,5	40,3	1,8-91,5	-9,9%
	МА-200 (2016)	20	0	101,5	51,7	4,1-99,4	-2,1%

Второй цикл выполнен в двух вариантах (рис. 1). Самые продуктивные линии первого цикла, ДН-3 и ДН44-00, скрещены с F₁, и из этих генотипов произведены серии МА-100 (11 линий) и МА-200 (20 линий). Серии МА-100 и МА-200 испытаны в 2013 и 2016 гг., причем последний год оказался неблагоприятным по условиям. В частности, не возшли некоторые линии и без того малочисленной серии МА-100. Во втором цикле прогресс по сравнению с первым циклом проявился только по средней продуктивности, но не по продуктивности лучшей линии. В серии МА-100 среднее значение выросло, по данным 2013 г., по сравнению с первым циклом на 12 г/раст. Серия МА-200 не испытывалась одновременно с первым циклом, сравнивать ее с первым циклом можно косвенно, относительно контрольных генотипов МК01 и А619. В первом цикле средняя продуктивность

ДН-линий примерно совпадает с продуктивностью А619, колеблясь в пределах ± 6 г/раст. в разные годы. В серии МА-100 среднее превысило значение А619 на 13-18 г/раст., а в серии МА-200 превышение составило 25 г/раст. в 2016 году.

Дальнейший селекционный прогресс возможен в третьем (восстановительном) цикле для выполнения которого в серии МА-200 отобраны самые продуктивные линии МА-210 и МА-217.

5.6. Неаллельные взаимодействия в дигаплоидных линиях и тесткроссах

Распределение дигаплоидных линий по многим признакам, включая продуктивность, проявило заметную асимметрию относительно ожидаемого среднего, которое, в частности, равно $(P_1 + P_2)/2$ в первом цикле. Например, для продуктивности первого початка в серии гk-0 отношение положительных и отрицательных отклонений от ожидаемого среднего составило 3:20 в 2011 году и 3:16 в 2014 году. В серии МА-0 аналогичное отношение составило 3:37 и 6:35 в 2003-2004 гг. Такая асимметрия не согласуется с аддитивно-доминантной моделью и свидетельствует о неаллельных взаимодействиях в генетическом контроле признаков. Для признаков размера растения и початка характерен сдвиг распределения вниз, то есть линии в среднем менее крупные и продуктивные против теоретически ожидаемого. Что касается фенофаз, то в гибридной комбинации Rf7×Ky123 проявляется сдвиг в позднюю сторону, а в гибридной комбинации МК01×А619 – в раннюю [37]. Объединенные данные по всем экспериментам приведены в табл. 12, так же для сравнения приведены и данные по тесткроссам.

В гибридной комбинации Rf7×Ky123 максимальную асимметрию проявляют продуктивность первого початка, длина первого початка, диаметр стебля и длина метелки. Для длины первого початка асимметрия даже более выражена, чем для его продуктивности, что может указывать на то, что неаллельно взаимодействующие факторы, влияющие на продуктивность, действуют в первую очередь через длину початка. Наблюдавшаяся согласованность показателей асимметрии для длины початка и длины метелки позволяет предположить общность соответствующих генетических факторов, которые действуют на пролиферацию цветочной меристемы на ранних стадиях развития.

В гибридной комбинации МК01×А619 асимметрии по продуктивности сопутствует асимметрия не по длине початка и метелки, а по диаметру початка и озерненности. Вероятно, неаллельно взаимодействующие факторы, влияющие на продуктивность, в этой комбинации имеют другую природу и действуют на более поздних стадиях, влияя на озерненность и диаметр початка [34].

Таблица 12. Распределение дигаплоидных линий и тесткроссов по значениям признаков: доля превышений над теоретическим средним в 2003-2017 гг.

Признак	Комбинация Rf7×Ky123		Комбинация МК01×А619	
	Линии	Тесткроссы	Линии	Тесткроссы
Интервал от сева до цветения метелки	0,57 *	0,49	0,32 ***	0,29 ***
Интервал от сева до цветения початка	0,61 **	0,44	0,33 ***	0,30 ***
Разрыв цветения	0,55	0,44 *	0,48	0,42
Интервал цветение-созревание	0,48	0,57 **	0,41 *	0,61 *
Интервал от сева до созревания	0,49	0,54	0,33 ***	0,41
Высота растения	0,38 ***	0,51	0,33 ***	0,50
Длина стебля	0,40 **	0,50	0,33 ***	0,55
Длина метелки	0,29 ***	0,52	0,49	0,39 *
Диаметр стебля	0,32 ***	0,41 ***	0,43	0,51
Озерненность початка	0,55	0,72 ***	0,27 ***	0,84 ***
Длина початка	0,25 ***	0,55 *	0,45	0,52
Диаметр початка	0,48	0,51	0,15 ***	0,63 **
Число рядов зерен	0,52	0,49	0,44	0,64 **
Масса стержня початка	0,43	0,54	0,51	0,41
Продуктивность первого початка	0,27 ***	0,51	0,18 ***	0,39
Продуктивность прочих початков	0,37 **	0,48	0,20 ***	
Общая продуктивность	0,34 **	0,56	0,17 ***	

Примечание. Значимость отличия от 0,5: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

В тесткроссах распределение признаков ближе к симметричному, значимые отклонения от отношения 1:1 встречаются вдвое реже, а высокосignимые (P<0,001) – втрое реже (табл. 12). Не замечено значимой асимметрии для продуктивности, что согласуется с результатами теста Кавалли (см. 3.5). Снижение неаллельной компоненты в изменчивости тесткроссов удовлетворительно объясняется меньшей величиной гетерозигот-гетерозиготных и гетерозигот-гомозиготных взаимодействий по сравнению гомозигот-гомозиготными. Возможны и дополнительные факторы - переход к другому диапазону значений признака, в котором не соблюдается прежнее правило сложения эффектов, и взаимодействия высоких порядков (трехгенные и выше), которые в тесткроссах могут проявляться с меньшей частотой. Практически это означает, что выводы, полученные в генетическом анализе тесткроссов, остаются в силе. Это касается степени доминирования, направленности эффектов и сцепления, но для селекции неаллельные взаимодействия могут доставить определенные затруднения.

5.7. Озерненность початка в гибридной комбинации МК01×А619

В гибридной комбинации МК01×А619 продуктивность оказалась тесно связана с озерненностью початка. У материнской линии МК01 средняя озерненность близка к

100%, но отцовской линии А619 свойственна неполная озерненность, от 20% до 90% в разные годы. Различия по озерненности еще более усиливаются в дигамплоидных линиях и в большой степени определяют различия по продуктивности. Около половины линий имеют устойчиво хорошую озерненность ($>90\%$), у худшей линии ДН12-00 озерненность регулярно близка к нулю, остальные линии занимают промежуточное положение. Низкая озерненность вызвана затрудненным выходом рылец из початка, так как она проявляется только на свободном опылении. При ручном опылении озерненность получается нормальной даже у худшей линии ДН12-00 [36].

Озерненность проявляет коррелятивную связь с окраской стержня початка. Исходные формы различаются окраской стержня (МК01 – красная, А619 – белая), которая контролируется локусом Р1 (1-70, [17]). ДН-линии серии МА-0 распределились по окраске пополам, причем у линий с красным стержнем озерненность в среднем выше при значимости $P < 0,05$. Это, вероятно указывает на сцепление локуса Р1 с сильнодействующим фактором озерненности.

Дальнейшие исследования проводили в анализирующих скрещиваниях, для которых выбрали линии первого цикла с низкой озерненностью, ДН12-00 и ДН40-00. В 2009 году оценивались семейства $(M \times 40) \times 40$, $(40 \times A) \times 40$, $(M \times 12) \times 12$ и $(A \times 12) \times 12$, а в 2011 году повторены испытания семейств $(M \times 12) \times 12$ и $(A \times 12) \times 12$. Здесь $M = \text{МК01}$, $A = \text{А619}$, $12 = \text{ДН12-00}$, $40 = \text{ДН40-00}$.

Семейства $(M \times 40) \times 40$ и $(M \times 12) \times 12$ проявили бимодальное распределение (рис. 4-5), что является признаком олигогенного контроля. В семействе $(M \times 40) \times 40$ наблюдалось отчетливое распределение 1:1. Разделение семейства на две группы явно вызвано одним геном, плюс-аллель которого доминирует и унаследован от родителя МК01. В семействе $(M \times 12) \times 12$ распределение тоже бимодальное, но ближе к дигенному 3:1, чем к моногенному 1:1. Из этого следует, что линия ДН40-00 отличается от МК01 одним геном, а линия ДН12-00 – двумя. Что касается генетических отличий ДН-линий от А619, то ни моногенных, ни дигенных эффектов здесь не замечено. Соответствующие распределения строго унимодальны (рис. 5), что указывает на действие по крайней мере нескольких генов.

Чтобы отделить генетическую дисперсию от средовой и оценить число локусов по дисперсиям, от анализирующих скрещиваний были получены самоопыленные семейства: 27 семейств от $(M \times 12) \times 12$ и 46 от $(A \times 12) \times 12$. Генетическая дисперсия между семьями $[(M \times 12) \times 12] \otimes$ составила 603,3 квадратных процента, а между семьями $[(A \times 12) \times 12] \otimes$ – 105,5.

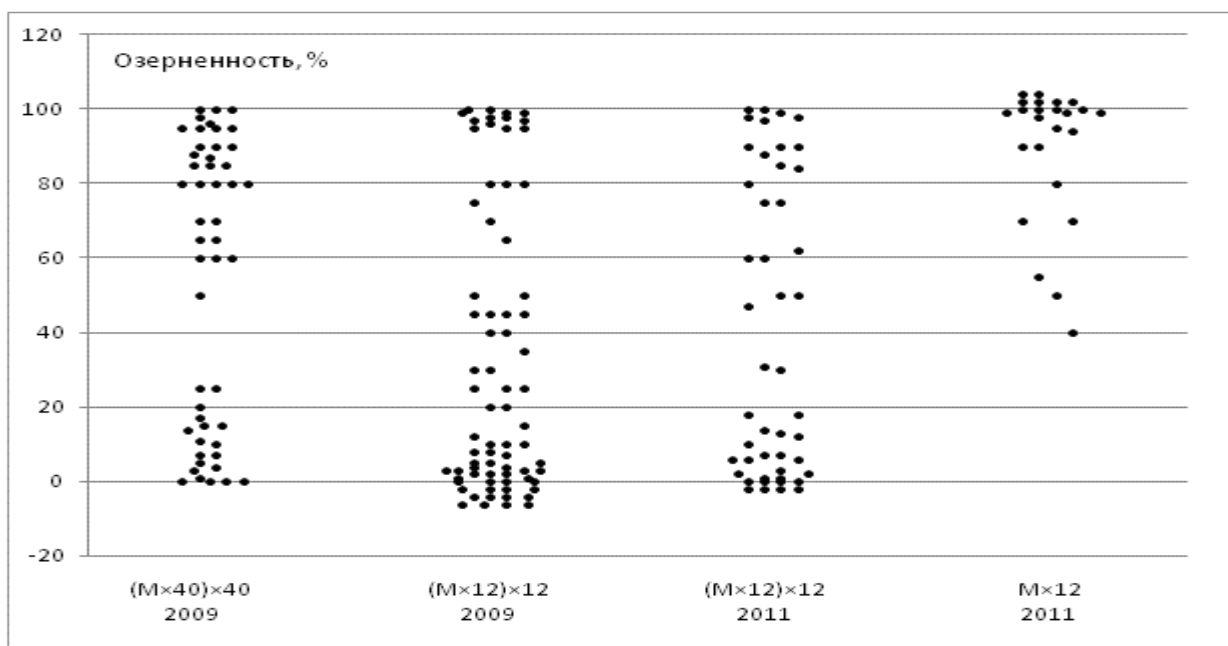


Рис. 4. Озерненность початка в семействах (M×DH)×DH и в контрольной форме
Примечание. Здесь и на рис. 5 точки со значениями 0 и 100 могут располагаться за пределами границ.

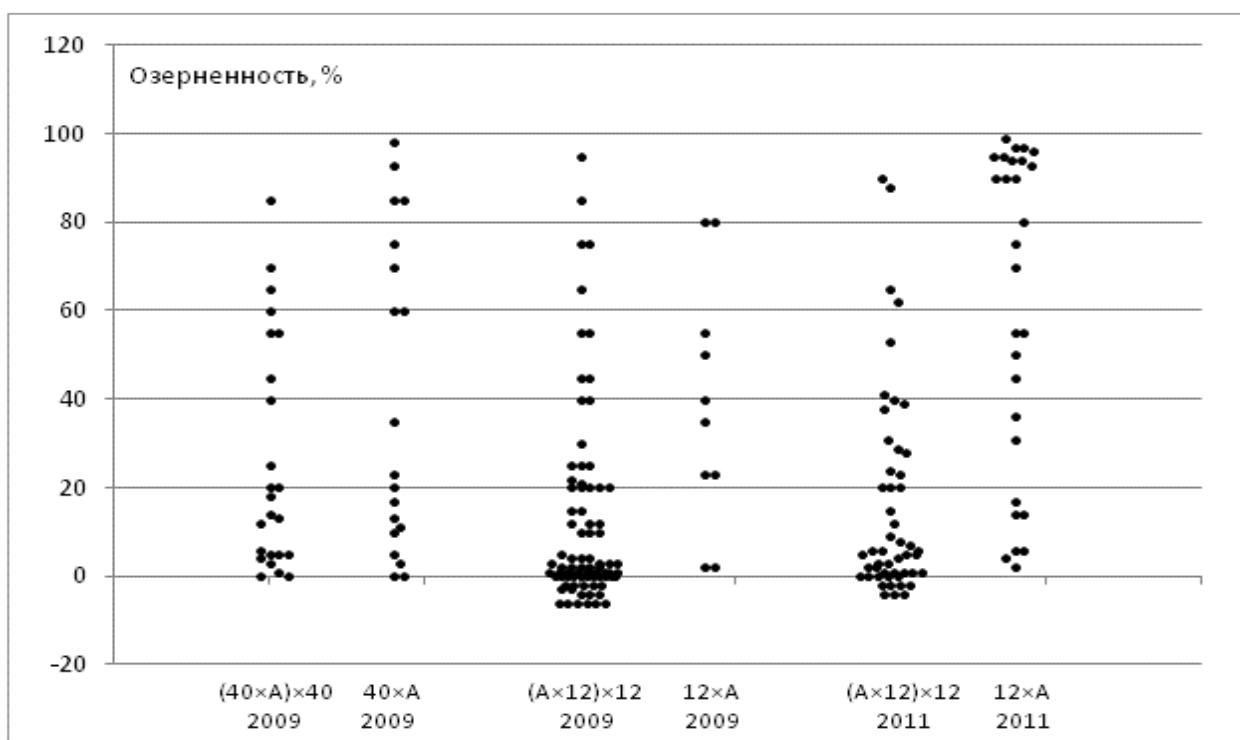


Рис. 5. Озерненность початка в семействах (DH×A)×DH и в контрольных генотипах

Так как признак в крайних генотипах принимает крайние значения, в данном случае можно пользоваться формулой Райта [28], принимающую в нашем случае следующую модификацию:

$$n = \frac{(2+\alpha)^2}{64\sigma_{gen}^2}, \text{ где } \alpha - \text{средняя степень доминирования, } \sigma_{gen}^2 - \text{генетическая дисперсия.}$$

Поскольку плюс-аллели сосредоточены у одного компонента скрещивания (у DH12-00 плюс-аллелей быть не может), среднюю степень доминирования вычисляли как линейную оценку:

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

где S – средняя озерненность генотипа, указанного в скобках, α_M и α_A – средняя степень доминирования плюс-аллелей, унаследованных от МК01 и А619. Расчеты дали следующие оценки числа плюс-аллелей и их среднего доминирования:

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

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

Таким образом, МК01 отличается от DH12-00 одним-двумя доминантными плюс-аллелями, а А619 отличается от DH12-00 несколькими полудоминантными плюс-аллелями (супрессорами), ориентировочно шестью [20].

ОБЩИЕ ВЫВОодЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Общие выводы

1. Разработан метод расчета несмещенных оценок квадратичных генетических параметров, в которых элиминирован эффект сцепления генов, что позволяет получать информативные оценки важнейшего элемента генетической организации гетерозиса – средней степени доминирования, а также и ряда других элементов – числа основных действующих локусов, среднего направления доминирования в действующих локусах и среднего сцепления между ними.

2. Несмещенные оценки, примененные к шести популяциям кукурузы, показали преобладание в эффекте гетерозиса доминантных и полудоминантных взаимодействий с типичной средней степенью доминирования 0,7. Данный результат существенно дополняет полученные ранее экспериментальные свидетельства, увеличивая с 4 до 10 число примеров, подтверждающих теорию доминирования.

3. Из неаллельных взаимодействий у кукурузы преобладают гомозигот-гомозиготные взаимодействия, которые, не внося существенного вклада в эффект гетерозиса, дают существенный вклад в инбредную депрессию. На оценки средней степени доминирования неаллельные взаимодействия не оказывают существенного влияния.

4. Несмещенные значения квадратичных параметров были использованы для оценки числа основных генетических факторов. Показано, что у кукурузы за гетерозис по продуктивности отвечают несколько десятков локусов, ориентировочно 30-70, на которые

приходится основная часть гетерозисного эффекта.

5. В локусах, контролирующих продуктивность кукурузы, доминирование в основном однонаправленно: возможные отрицательные эффекты могут составлять в сумме не более 1/7 от суммы положительных. У других признаков доминирование может быть разнонаправленным.

6. Для группового сравнения гибридов и родительских линий предложена статистическая величина нормированного гетерозиса, которая, являясь обобщением частоты истинного гетерозиса, позволяет давать данным группового сравнения генетическую интерпретацию. Показано, что эта величина является функцией средней степени доминирования и среднего числа основных локусов, контролирующих гетерозис.

7. Разработан метод интервальной оценки среднего сцепления между действующими локусами. Для гибридной комбинации Rf7×Ky123 оценка составила 0,04-0,08, что соответствует статистически ожидаемому для случайного расположения генов и доказывает корректность примененного метода учета влияния сцепления. Вывод о доминантной природе гетерозиса сохраняет силу для любого значения среднего сцепления из найденного интервала.

8. В поздних поколениях инбридинга сцепление между локусами снижается благодаря цис-эффекту гомозиготного генетического фона. На гетерозиготном фоне частота рекомбинации согласуется с ожидаемой по генетическим картам, тогда как на гомозиготном фоне она повышается по сравнению с ожидаемой примерно в два раза.

9. Разработана схема дигаплоидной обогатительно-восстановительной селекции, направленная на объединении в инбредной линии благоприятных аллелей, отвечающих за гетерозис. Она предназначена для полного или частичного закрепления гетерозиса любой природы, за исключением сверхдоминантной.

10. По итогам испытания на кукурузе начальных циклов дигаплоидной селекции показано, что три цикла селекции в гибридной комбинации Rf7×Ky123 привели к созданию инбредной линии, превосходящей по продуктивности лучшую родительскую форму Rf7 на 30%.

11. Наблюдавшийся селекционный прогресс в гибридной комбинации Rf7×Ky123 совпадает с темпами, которые в компьютерной имитации ожидаются при 50-100 действующих локусах и средней степени доминирования 0,7-1,0. Эти значения близки к оценкам, полученным в генетических экспериментах и косвенно подтверждают их адекватность.

12. Для гибридной комбинации МК01×А619 показан олигогенный контроль озерненности початка: линия А619 несет 1-2 мутации, затрудняющих выход рылец из початка,

действие которых отчасти скомпенсировано несколькими полудоминантными супрессорами. Проявление этого и других изучавшихся качественных признаков в дигаплоидных линиях согласуется с теорией компенсационного комплекса генов.

Практические рекомендации

1. Классический анализ количественных признаков кукурузы рекомендуется дополнить расчетными методиками, позволяющими учитывать эффект сцепления и получать несмещенные оценки интегральных генетических параметров.

2. В селекционной практике рекомендуется использовать поздние поколения инбридинга для поиска редких рекомбинантов, так как при переходе значительной части генома в гомозиготное состояние частота рекомбинаций должна существенно возрастать.

3. Рекомендуется линия кукурузы Rf7 как источник генетических факторов, повышающих частоту спонтанного удвоения генома гаплоидов. В гаплоидных популяциях, большая часть генома которых унаследована от Rf7, спонтанное удвоение может происходить с частотой около 20%.

4. Для повышения продуктивности гомозиготных линий кукурузы рекомендуется использовать дигаплоиды по схеме обогатительно-восстановительной селекции, с соблюдением следующих условий: а) небольшое число линий в цикле (20-50), б) цикл селекции следует выполнять не менее чем в двух параллельных вариантах, в) при закладке нового цикла линия-предшественник отбирается по продуктивности или по комбинационной способности в беккроссах с родительскими формами.

5. Полученные в данной работе дигаплоидные линии кукурузы gk-5, gk-6, gk-148, gk-206, gk-225, gk-228, gk-239, gk-433, gk-459, МА-210 и МА-217 рекомендуются для селекции в качестве доноров благоприятных генов, повышающих продуктивность. Линия gk-206 рекомендуется как донор генов засухоустойчивости.

БИБЛИОГРАФИЯ

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 agro-nomical 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 BOHANEĆ, 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 numarului 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 дигаплоид-

- ных 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 среднееождаемого 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.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ НА ТЕМУ ДИССЕРТАЦИИ

1. Книги по специальности

1.1. Книги по специальности моноавтор

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

2. Статьи в научные журналы

2.1. в международные журналы котируемые ISI и 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 дигаплоидных 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. в зарубежные журналы

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 дигаплоидной селекции кукурузы. В: *Биотехнология и селекция растений*. 2019, т. 2, № 2, с. 24-32. ISSN 2658-6266.

2.3. в журналах из Национального Регистра профильных журналах, с указанием категории

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

3. Статьи в научных сборниках

3.1. в сборниках научных международных конференций (за рубежом)

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. в сборниках научных международных конференций (Республика Молдова)

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» (Междунар. науч.-практ. конф.)*. Тирасполь, 2020, с. 110-113. ISBN 978-9975-3404-1.

3.3. в сборниках национальных научных конференций с международным участием

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. в сборниках национальных научных конференций

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. Тезисы в научных сборниках

4.1. в сборниках научных международных конференций (за рубежом)

2. **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. 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. в сборниках научных международных конференций (Республика Молдова)

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-1july 2015: abstract book. Chisinau: Biotehdesign, 2015, p. 119. ISBN 978-9975-933-56-8.
2. **MIKHAILOV, M.E.** 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)*. Chişinău, 2018, p. 81. ISBN 978-9975-3178-5-6.
3. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Неаллельные взаимодействия у дигаметоидных линий кукурузы: физиологические корреляции. În: *Biotehnologii avansate – realizări şi perspective: simpozionul ştiinţific internaţional* (Ediţia a V-a), 21-21 oct. 2019: teze. Chişinău, 2019, p. 49. ISBN 978-9975-56-695-7

4. **МИХАЙЛОВ, М.Э.** Проявление неаллельных взаимодействий в селекции дигаплоидных 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. в сборниках национальных научных конференций с международным участием**
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 дигаплоидных 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 дигаплоидных 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. в сборниках национальных научных конференций**
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 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 normal* 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 constatat 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.

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 precise 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 genetic analysis of quantitative traits, since the accounting for linkage remains one of the least developed issues of biometric genetics. The methods developed 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 suggest the prevalence of dominant interactions in the heterosis effect in maize, being a weighty argument for the theory of dominance. The parameter of normalized heterosis introduced 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 on 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 obtain productive maize hybrids in the framework of 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.

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 локусов, 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.

**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 HET-
EROZISULUI LA PORUMB ȘI PARTICULARITĂȚILE VALORIFICĂRII
ACESTEIA ÎN SELECȚIA PLANTELOR DIHAPLOIDE**

162.01. Genetică vegetală

Rezumatul tezei de doctor habilitat în științe biologice

Chișinău, 2021

МИХАЙЛОВ МИХАИЛ ЭРИКОВИЧ

**ОСНОВНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
ГЕТЕРОЗИСА КУКУРУЗЫ И ОСОБЕННОСТИ ЕЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ДИГАПЛОИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

162.01. Генетика растений

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора хабилитат биологических наук

Aprobat spre tipar: 21.05.2021

Formatul hârtiei A4

Hârtie offset. Tipar digital

Tiraj 50 ex.

Coli de tipar: 1,0

Comanda nr. 19

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