

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»

УДК 575.113.2; 631.572.5

ШАПТУРЕНКО
Марина Николаевна

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ И ГЕТЕРОЗИС У РАСТЕНИЙ

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

по специальности 03.02.07- генетика

Минск, 2018

Научная работа выполнена в Государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Научный консультант: **Кильчевский Александр Владимирович**
доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси, главный ученый
секретарь НАН Беларуси

Официальные оппоненты: **Гриб Станислав Иванович**
доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
академик НАН Беларуси, главный научный
сотрудник лаборатории тритикале РУП
«Научно-практический центр НАН Беларуси по
земледелию»

Шалыго Николай Владимирович
доктор биологических наук, доцент, член-
корреспондент НАН Беларуси, заведующий
лабораторией биофизики и биохимии
растительной клетки ГНУ «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»

Гордей Иван Андреевич
доктор биологических наук, профессор, главный
научный сотрудник лаборатории цитогеномики
растений ГНУ «Институт генетики и цитологии
НАН Беларуси»

Оппонирующая
организация: Государственное научное учреждение
«Центральный ботанический сад НАН
Беларуси»

Защита состоится 21 июня 2018 г. в 10-00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 01.31.01 при ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27; тел.: (+375 17) 284 04 10, факс (+37517) 284 19 17, e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Автореферат разослан «17» мая 2018 г.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
кандидат биологических наук

О.А. Орловская

ВВЕДЕНИЕ

Одним из крупнейших достижений биологической и агрономической науки и практики является получение и широкое распространение гибридных форм хозяйственно важных растений, характеризующихся выраженным гетерозисным эффектом. Неоспоримо, что гетерозис как феномен превосходства гибридов F_1 над родителями является основным механизмом повышения продуктивности в растениеводстве, но при этом остается одним из наиболее интересных явлений с точки зрения генетики. Недостаточное развитие теоретических исследований в этой области сдерживает разработку предложений для производства, позволяющих более эффективно использовать гетерозис как механизм увеличения урожайности хозяйственно-важных культур. Первые попытки выяснения его генетических основ базировались на использовании теоретических моделей, которые хоть и оказались полезными, но не смогли в полной мере охарактеризовать это уникальное явление. С развитием современных подходов молекулярного анализа основные усилия были направлены на поиск основополагающих механизмов, ответственных за формирование гетеротического ответа в F_1 . Это позволило подняться на качественно новую ступень и перейти от теоретических моделей, описываемых классическими методами генетики и математической статистики, к изучению полиморфизма и взаимодействия генов на уровне макромолекул. Все это также способствовало развитию исследований, ориентированных на возможность прогнозирования гетерозиса в поколении F_1 .

Исходя из классической теории, гетерозиготность гибридов F_1 является основным фактором, обуславливающим формирование гетерозиса, в связи с чем предполагается существование линейной зависимости между уровнем дивергенции исходных родительских форм и гетеротическим ответом их гибридов F_1 [Falconer and Mackay, 1996]. Теоретически, вариация потомства F_1 увеличится в скрещиваниях более дивергентных родителей, так как число сегрегирующих локусов максимизировано [Cox et al., 1984]. Исходя из этого предположения, были предприняты попытки разработки критериев для отбора гетеротических комбинаций, базирующиеся на использовании различных типов молекулярных маркеров [Reif et al., 2012], однако, несмотря на некоторые успехи, применимость таких данных для практического использования так и не была обоснована из-за отсутствия системного подхода.

В связи с этим представляется актуальным научное обоснование перспектив использования различных методов оценки генетической дивергенции исходного селекционного материала при отборе гетеротических комбинаций скрещивания и разработки подходов к оптимизации гибридной селекции.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами (проектами), темами. Диссертационная работа выполнялась в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси в рамках следующих проектов: задание «Изучение процесса формирования и использования генетической изменчивости сельскохозяйственных растений с целью повышения эффективности селекционного процесса и создания коллекций» (1997-2000 гг., №ГР 19971257) и задание «Молекулярно-генетические основы стабильности и изменчивости количественных признаков при гетерозисе, внутривидовой и отдаленной гибридизации» (2001-2005 гг., №ГР 20012651) ГПОФИ «Биопродуктивность»; задание «Создать высокопродуктивные сорта и гибриды овощных культур, устойчивые к основным болезням, вредителям и абиотическим факторам с урожайностью капусты белокочанной среднепоздней и позднеспелой для длительного хранения 85-95 т/га универсального назначения с низким накоплением радионуклидов и нитратов с использованием методов ДНК-анализа для прогнозирования гетерозиса и генетической паспортизации линий» (2006-2008 гг., №ГР 20072249) и задание «Создать высокопродуктивные гибриды капусты белокочанной различных групп спелости на основе самонесовместимости и цитоплазматической мужской стерильности с урожайностью ультрараннего 50-60 т/га, среднеспелого 75-85 т/га и высоким качеством продукции с использованием молекулярно-генетического сопровождения для отбора, оценки чистоты и гибридности селекционного материала» (2011-2013 гг., №ГР 20114472) ГНТП «Агропромкомплекс»; задание «Изучение полиморфизма геномов перца сладкого, анализ систем генетического контроля количественных признаков исходного материала, создание константных линий» ГПОФИ «Селекция, семеноводство и генетика» (2008-2010, №ГР 20072066); задание «Разработать способ ранней диагностики высокогетерозисных форм сладкого перца на основе термогравиметрического и хроматографического методов анализа» ГП «Биоанализ и диагностика» (2005-2006 гг., №ГР 20041021); задание «Разработать ДНК –технологии идентификации родительских компонентов высокопродуктивных гетерозисных гибридов F₁ капусты белокочанной» ГП «ДНК- технологии» (2007-2011 гг.; №ГР 20072256); задание «Изучение молекулярно-генетических основ гетерозиса сельскохозяйственных растений» (2011–2013 гг., №ГР 20114474), задание «Разработать геномную технологию детерминации хозяйственно ценных признаков томата (*Solanum lycopersicum* L.) и создания гетеротических групп капусты белокочанной (*Brassica oleraceae* L.), сахарной свёклы (*Beta vulgaris*) для повышения эффективности их селекционного процесса» (2012-2014 гг., №ГР 20122324) ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологий» подпрограмма 2 «Геномика»; задание «Разработать молекулярно-генетические

и биотехнологические приёмы оптимизации селекционного процесса перца сладкого (*Capsicum annuum* L.)» МЦП ЕврАзЭс (2011-2013 гг., №ГР 20112893). Отдельные этапы исследований проводились при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в рамках проектов: Б99Р-078 «Анеуплоидия в генетических исследованиях злаков» (2000-2002 гг., ГР 20002395); Б06М-148 «Роль запасных компонентов семян в определении качества продукции перца сладкого (*Capsicum annuum* L.)» (2006-2008 гг., №ГР 20063887); Б11об-036 «Идентификация хозяйственно-важных генов для интрогрессивной селекции томата» (2011-2013 гг., № ГР 20112889); интеграционного проекта Б12СО-018 с СО РАН «Механизмы формирования и наследование устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам у мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L.» (2012-2014 гг., №ГР 201222363); Б14-131 «Статус метилирования ДНК линий *Capsicum annuum* L. и его роль в регуляции гетерозиса» (2014-2016 гг., №ГР 20143382).

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям 3.3 (Генетика и геномика растений, животных, микроорганизмов и человека, включая вопросы сохранения генетических ресурсов), 3.6 (Идентификация и картирование генов, паспортизация, маркирование, идентификация, селекция и создание сельскохозяйственных растений, животных и микроорганизмов с помощью ДНК-технологий, ДНК-технологии и генно-инженерные методы в диагностике и лечении заболеваний человека и сельскохозяйственных животных) фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011-2015 годы, утвержденных постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 13.04.2010 г. №584, а также приоритетному направлению 3 (Биологические системы и технологии) научных исследований Республики Беларусь на 2016 – 2020 годы, утвержденному постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 № 190.

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы явилось научное обоснование перспектив использования различных методов оценки генетической дивергенции исходного селекционного материала при отборе гетерозисных комбинаций скрещивания у растений и разработка подходов к оптимизации гибридной селекции.

Для осуществления поставленной цели были определены следующие задачи:

- 1) изучение молекулярно-генетических основ гетерозиса, базирующееся на анализе типов действия генов и их взаимодействия;
- 2) оценка вклада молекулярно-генетической дивергенции и дифференциального полиморфизма исходных родительских форм в реализацию продуктивного потенциала гибридов F₁ авто- и аллогамных видов на примере *Triticum aestivum* L., *Capsicum annuum* L., *Solanum lycopersicum* L., *Brassica*

oleracea L.;

3) выявление генетических детерминант гетеротического ответа в F_1 , идентификация потенциальных маркеров для их селекции;

4) разработка алгоритма, позволяющего оптимизировать отбор перспективного исходного материала *Triticum aestivum* L., *Capsicum annuum* L., *Solanum lycopersicum* L., *Brassica oleracea* L. в селекции на гетерозис.

Научная новизна. Впервые выполнен комплексный анализ перспектив использования различных методов оценки генетической дивергенции исходного материала для оптимизации отбора в селекции на гетерозис таких важных сельскохозяйственных культур, как пшеница, перец сладкий, томат, капуста белокочанная. Показано, что генетический потенциал гибридов F_1 в значительной степени детерминирован дифференциальным полиморфизмом геномов исходных родительских форм, что позволяет использовать его как критерий отбора гетеротических групп.

При изучении роли метилирования ДНК в проявлении гетерозиса показано, что гибридизация обуславливает возникновение эпигенетических модификаций гибридного генома, которые связаны как с метилированием, так и снятием его эффекта. Различия в эпигенетическом статусе ДНК объясняют проявление гетерозиса при скрещивании близкородственных форм, а также отсутствие линейной связи между уровнем структурной ДНК-дивергенции и проявлением гетерозиса в F_1 .

Обоснована возможность использования кинетических показателей термодеструкции семян перца сладкого для исследования гетерогенности исходного селекционного материала и создания гетеротических групп.

На основе полученных результатов разработан алгоритм оптимизации селекционного процесса, базирующийся на использовании методов молекулярного анализа для оценки разнообразия исходного селекционного материала и отбора дивергентных пар скрещивания.

Проведенное исследование способствует углублению представлений о механизмах гетерозиса. Полученные данные обосновывают и расширяют возможности использования молекулярных маркеров в практических целях. Результаты имеют методическое значение, так как ориентируют на необходимость детализации информации о генетическом полиморфизме посредством отбора маркеров, связанных с проявлением эффекта гетерозиса в F_1 .

Положения, выносимые на защиту:

- установление молекулярно-генетических особенностей генофонда базовых коллекций *Triticum aestivum*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annuum*, *Brassica oleracea*, наряду с классическим анализом по фенотипу и испытаниями на комбинационную способность, обеспечивают оптимальный подбор

компонентов гибридизации для системных скрещиваний в селекции растений на гетерозис;

- генетический потенциал гибридов F_1 *T.aestivum.*, *S.lycopersicum*, *C.annuum*, *B.oleracea* в значимой степени детерминирован дифференциальным полиморфизмом¹ геномов исходных родительских форм, что позволяет использовать данный показатель в качестве критерия отбора при создании гетеротических групп;

- стартовое преимущество гибридных растений обеспечивается сбалансированностью состава запасных компонентов семени и сохраняется вплоть до формирования урожая. Такие биохимические показатели запасных компонентов семян как содержание и соотношение жирных кислот, фосфора и фитина могут использоваться для отбора перспективных генотипов, исследования гетерогенности исходного селекционного материала и создания гетеротических групп у перца сладкого (*C. annuum*);

- сопряженность дифференциального метилирования генома с проявлением гетерозиса у гибридов F_1 перца сладкого (*C. annuum*) свидетельствует об участии эпигенетических механизмов в формировании гетеротического ответа. При этом эпигенетическая вариация объясняет отсутствие линейной связи между уровнем структурной ДНК-дивергенции и гетерозисом в F_1 , а также проявление гетерозиса при скрещивании родственных (генетически сходных) линий;

- алгоритм оптимизации отбора, основанный на использовании данных молекулярно-генетического анализа, позволяет сократить сроки создания новых конкурентоспособных форм *T. aestivum*, *S. lycopersicum*, *C. annuum*, *B. oleracea* при их селекции на гетерозис.

Личный вклад соискателя. Основные результаты, представленные в диссертационной работе, получены непосредственно автором, а также совместно с коллегами Института генетики и цитологии НАН Беларуси и Института овощеводства. Хроматографический и термогравиметрический анализы выполнены в Центре физико-химических методов исследования кафедры биотехнологии и биоэкологии Белорусского государственного технологического университета, изоферментный анализ – в лаборатории генетической инженерии растений и лаборатории популяционной генетики Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва). Соискатель непосредственно осуществлял планирование экспериментов, составление программы исследования, а также выполнял теоретическое обобщение полученных результатов. Участие сотрудников, задействованных в выполнении работы, отражено в совместных публикациях. Выражаю глубокую

¹ Дифференциальный полиморфизм определяется соотношением числа полиморфных и мономорфных локусов в парных комбинациях скрещивания

благодарность моим коллегам и соавторам за плодотворное совместное сотрудничество и дружескую поддержку. Особую признательность выражаю моему учителю - профессору, академику Л.В. Хотылевой, оказавшей значительное влияние на выбор направления исследования и мое становление в науке. Благодарю научного консультанта, профессора, академика А.В. Кильчевского за поддержку и содействие в выполнении работы.

Апробация диссертации и информация об использовании её результатов. Материалы диссертационной работы представлены на 20 научных конференциях, симпозиумах и съездах: Международном симпозиуме «Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур» (Москва, 2005); VIII Geneticist's and Breeder's Congress of Moldova (Chishinau, 2005); IV Baltic Genetical Congress (Daugavpils, 2007); Международной научно-практической конференции «Теоретические основы применения биотехнологии, генетики и физиологии растений в современной селекции растений и растениеводстве» (Брянск, 2009); V Съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Москва, 2009); XIV EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant (Valencia, 2010); The International Conference «Plant genetics, genomics, and biotechnology» (Novosibirsk, 2010); 8th International wheat conference (St.Petersburg, 2010); 20th International Triticeae Mapping Initiative and 2nd Wheat Genomics in China (Beijing, 2010); Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2012); The 2nd International Conference «Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology» (Irkutsk, 2012), XV EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant (Torino, 2013); II международной научно-практической конференции «Новейшие достижения биотехнологии» (Киев, 2013); Международной научно-практической конференции «Современное состояние и перспективы инновационного развития овощеводства» (Самохваловичи, 2014); VI Съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Ростов-на-Дону, 2014); EWAC International Conference (Lublin, 2015); 3rd International Conference «Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology» PlantGen (Novosibirsk, 2015); II Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2015); XVI EUCARPIA Capsicum and eggplants meeting (Kecskemét, 2016); 13th International Wheat Genetic Symposium (Tulln, 2017).

Результаты исследований внедрены в научные, учебные и производственные организации Беларуси. Созданные в процессе исследований 7 высокоурожайных сортов и гибридов овощных растений районированы по республике и 1 проходит Государственное испытание.

Опубликованность результатов диссертации. Основные результаты диссертации опубликованы в 70 научных работах, в том числе: 3 главы в коллективных монографиях, 33 статьи в рецензируемых научных журналах (26 соответствуют п.18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь – 15,2 авторских листа), 12 статей в материалах научных конференций, 22 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 336 страницах и состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав, заключения, библиографического списка, включающего 430 литературных источника и 70 публикаций автора. Экспериментальный материал представлен в 68 таблицах, 67 рисунках, 14 приложениях.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе работы дана критическая оценка теоретических концепций гетерозиса с позиции накопленных к настоящему времени данных генетики и молекулярной биологии, которые концентрируются на конкретных механизмах, действующих в отношении специфических признаков. В частности, затронуты аспекты, касающиеся роли летальных и полuletальных мутаций при формировании гетерозисного фенотипа у растений. Рассмотрены вопросы интерпретации генетических эффектов при наличии сцепления. Особое внимание уделено неаллельным взаимодействиям генов, которые добавляют новые нюансы при обсуждении эффектов доминирования и сверхдоминирования. Значительное внимание уделено современным тенденциям в изучении молекулярных основ гетерозиса на уровне генома, транскриптома, метаболома и эпигенома. Представлена информация о понятии комбинационной способности и ее практическом использовании в контексте концепции гетеротических групп. Дается научное обоснование перспектив оценки генетической дивергенции и дифференциального полиморфизма генов для отбора гетеротических комбинаций скрещивания при селекции растений на гетерозис.

Объекты и методы исследования

Объекты исследования - образцы пшеницы (*Triticum aestivum*), перца сладкого (*Capsicum annuum*), томата (*Solanum lycopersicum*) и капусты белокочанной (*Brassica oleracea*):

- полная серия дисомных линий (21 образец) мягкой яровой пшеницы Опал; 63 гибрида F₁ полученных в тесткроссе 21×3;

- коллекция сортов (64 образца) яровой и озимой пшеницы отечественной и зарубежной селекции; 48 гибридов F₁;

- 39 линий из селекционной коллекции перца сладкого; 116 гибридов F₁, в т.ч. полученные в тесткроссах 7×4, 9×1, диаллельных схемах 5×5, 6×6, 5×5, и

циклическом скрещивании;

- 6 линий томата закрытого грунта и 30 их диаллельных гибридов F₁ (6×6);
- селекционная коллекция (28 образцов) капусты белокочанной, включая 13 перспективных линий; 86 гибридов F₁, полученных в полных диаллельных схемах скрещиваниях 5×5 и 8×8.

Методы исследования. В процессе работы были проведены сравнительные биохимический, молекулярно-генетический и классический генетический анализы. Для биохимических исследований белок-ферментных систем использовали электрофорез в твердых носителях. Анализировали компонентный состав основных белков, протеолитических ферментов, пероксидазного комплекса в полиакриламидном (ПААГ) геле, а также множественные формы 10 ферментов (IDH, ААТ, MDH, SDH, 6-PGD, SOD, PGM, SKDH, GDH, АСР) в крахмальном геле (КГ). Гистохимическое выявление изоформ выполняли по общепринятым методикам [Корочкин и др., 1977].

Жирно-кислотный состав семян исследовали при помощи газо-жидкостной хроматографии [Леонтьев и др, 2005]. Кинетические параметры термодеструкции семян определяли на основе термогравиметрического анализа [Топор, 1987; Прокопчук, 1989]. Содержание в семенах неорганического фосфата и солей миоинозитфосфорной кислоты (фитин) оценивали спектрофотометрически [Скулачев, 1962; Lattma, Eskin, 1980].

Для анализа полиморфизма ДНК использовали RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), RGH (Resistance Gene Homologue), ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), SSR (Simple Sequence Repeat), SNP (Single Nucleotide Polymorphisms), MSAP (Methyl Sensitive Arbitrary Polymorphism).

ДНК выделяли из проростков с использованием набора Genomic DNA Purification Kit (Fermentas). Полимеразную цепную реакцию проводили в стандартном режиме, с использованием оборудования фирм BioRad и Biometra. Продукты амплификации разделяли в 1,3-1,8% агорозном геле. Анализ флуорисцентно-меченых фрагментов ДНК выполняли на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems Genetic Analyser 3500.

Стандартный статистический анализ, расчет евклидовых дистанций, кластеризацию и корреляционный анализ осуществляли с помощью программного пакета Statistica 5.0 (Stat Soft, USA). Обработку бинарных матриц, подсчет частот аллелей и их распределения выполняли при помощи программных пакетов GenePOP, GenAlex (Microsoft, USA). Расчет генетических дистанций и распределение генотипов по уровню генетической близости на основе молекулярных и биохимических исследований проводили с использованием программы DarWin 6.0.

Общий математический анализ количественных признаков выполняли по

стандартным методам вариационной статистики [Рокицкий, 1967], с использованием программ, разработанных в ИГЦ НАНБ. Определение величин эффектов общей комбинационной способности (ОКС), вариантов специфической комбинационной способности (СКС) и стандартных ошибок выполнено в соответствии с [Griffing, 1956] и [Gupta, 1967], анализ эффекта истинного (ИГ) и гипотетического (ГГ) гетерозиса - согласно [Мазеру и Джинксу, 1985].

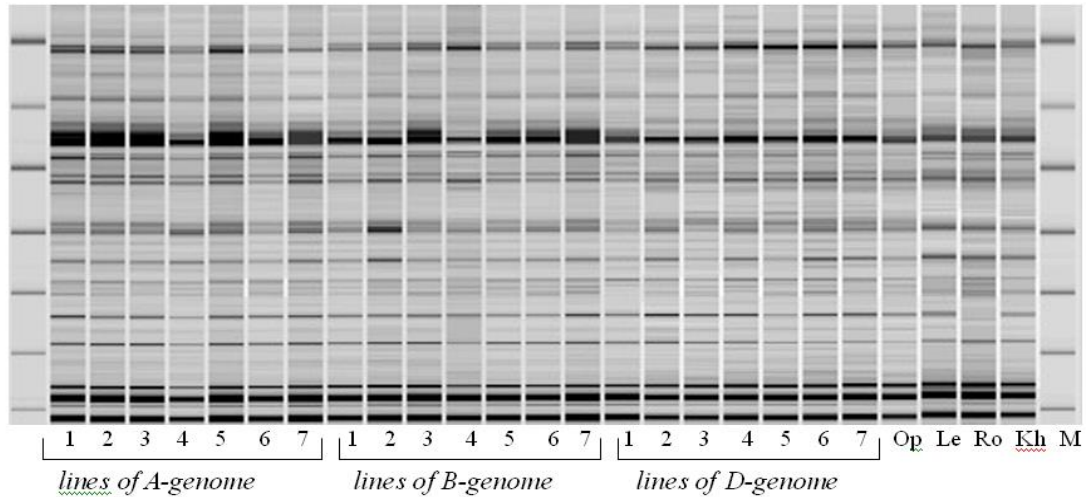
Генетическая дивергенция как критерий отбора гетеротических комбинаций скрещивания у пшеницы (*Triticum aestivum* L.)

Исследования проводились на полной серии дисомных линий пшеницы Опал и коллекции образцов белорусского генофонда, включающей сорта отечественной и зарубежной селекции.

Молекулярно-генетическая дивергенция дисомных линий Опал как показатель их селекционной ценности. В процессе исследований серии моносомных линий у сорта Опал на цитоплазме Опал были обнаружены различия между 42-хромосомными (дисомными) растениями в характере проявления количественных признаков [Дыленок и др., 1994; Анисимова, 1996; Шаптуренко и др., 2007]. Это позволило предположить, что гетерогенность дисомиков обусловлена прохождением растений через анеуплоидное состояние, которое могло стимулировать рекомбиногенез вследствие ослабления конъюгации в процессе мейоза. Для обоснования выдвинутого предположения мы провели изучение молекулярно-генетической гетерогенности дисомных линий мягкой пшеницы Опал и ее роли в реализации генетического потенциала гибридов F_1 . В процессе исследований были выполнены биохимический и молекулярно-генетический анализ 42-хромосомного потомства моносомных растений (21 линия) и проведены испытания в системе топкросса 21×3 .

Выполненный молекулярный анализ подтвердил, что фенотипическая изменчивость дисомных линий генетически детерминирована (рисунок 1). Причем различия между 42-хромосомными растениями проявляются в зависимости от принадлежности исходного моносомика к тому или иному геному. Наиболее полиморфными оказались *A*- и *B*-дисомики, наименее – *D*-дисомики. Полученные данные позволили предположить, что у анеуплоидов скорость рекомбиногенеза неодинакова и может зависеть от состояния моносомии, т.е. находится под влиянием генома и гомеологичной группы, в которых отсутствует одна из хромосом. Для выяснения, насколько ценны возникшие перестройки в хромосомном аппарате дисомиков для селекции, мы провели испытания полной серии дисомных линий в топкроссе 21×3 .

Исследования позволили выявить комбинации с высокой степенью гетерозиса по элементам продуктивности. При этом у гибридов F_1 наблюдались некоторые общие закономерности, связанные с принадлежностью исходного моносомика к



Op – Опал, Le – Ленинградка, Ro – Родина, Kh – Харьковская 8, M – маркер молекулярного веса

Рисунок 1. - Амплификация с праймерами *DRP1/DRP2* к NBS-LRR домену консервативных мотивов генов устойчивости

конкретному геному, что поддерживает предположение о направленности рекомбинационных процессов, которые могли иметь место у соответствующих анеуплоидных линий.

По признаку «масса зерна растения» гибриды значительно превосходили родителей на 10-55%. Достоверно высокие значения гетерозиса определены в комбинациях, полученных с участием шести *D*-линий (*1D*, *2D*, *3D*, *4D*, *6D*, *7D*), четырех *B*-линий (*4B*, *5B*, *6B*, *7B*) и одной *A*-линии 5 гомеологичной группы. Наиболее эффективным оказалось использование в гибридизации дисомиков *2D* и *3D*.

При сравнительном исследовании гетерогенности дисомных линий по отношению к исходному сорту Опал была оценена роль выявленных изменений в формировании генетического потенциала 42-хромосомных растений. В результате корреляционного анализа положительные ассоциации были обнаружены между признаками «масса зерна растения» ($r=0,28$), «число зерен растения» ($r=0,26$) и уровнем ДНК- и биохимической- гетерогенности исходных линий соответственно, что может указывать на вклад возникших в геноме отдельных дисомных линий перестроек в формирование их высокого генетического потенциала. Вместе с тем, анализ сопряженности уровня генетической дивергенции (GD) парных комбинаций скрещивания с продуктивностью гибридов F_1 выявил негативные связи, свидетельствуя, что в данной выборке генотипов критерий GD не может быть использован для предсказания гетеротического ответа гибридов F_1 . В эксперименте использовался специфический материал, генетическая гетерогенность которого формировалась на ранних этапах его создания. Часть возникших перестроек не связана с реализацией компонентов продуктивности. Очевидно, что продуктивный потенциал гибридов, полученных с участием дисомных линий зависит от природы

действия отдельных генов, а не от общего числа выявляемых различий. Вероятно, большинство рекомбинаций возникли на ранних этапах создания серии дисомных линий, что позволило им закрепиться в процессе размножения. Анеуплоидный фактор, дестабилизируя геном, способствовал перекомбинации генетического материала, сыгравшей решающую роль в формировании изменчивости дисомных растений. Полученные данные позволяют рассматривать дисомное потомство анеуплоидов как ценный источник новых генных комбинаций и перспективный селекционный материал.

SNP полиморфизм как критерий отбора дивергентных пар скрещивания при селекции пшеницы на гетерозис. При проведении сравнительного анализа 64 образцов гексаплоидной пшеницы белорусской селекции и 27 сортов, представляющих разнообразие 5 европейских стран (Украина, Германия, Россия, Польша, Англия) использовали 384 ген-ассоциированных SNP, отобранных по принципу равномерного распределения по геному согласно [Cavanagh et al., 2013]. В общей сложности был типирован 331 (86%) SNP. Полиморфизмы в SNP локусах включали 80,8% транзиций и 19,2% трансверсий. Наблюдаемая частота минорных аллелей (MAF) была смещена в сторону аллелей с $MAF > 0,25$. Из 331 маркеров, только 8 (2,4%) имели $MAF \leq 0,05$, и 236 (71,3%) - $MAF \geq 0,2$, что подтвердило их высокую дифференцирующую способность. Распределение минорных аллелей в подгруппах также выявило различия (рисунок 2): у озимой пшеницы, характеризующейся высоким общим полиморфизмом SNP, были представлены высокие частоты аллелей с MAF более 0,25, тогда как для яровой пшеницы отмечено

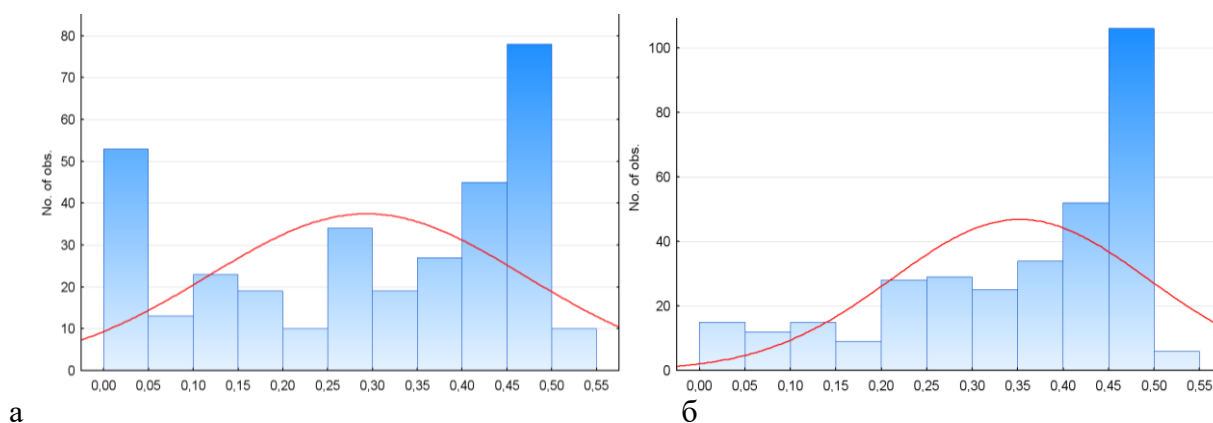


Рисунок 2. - Распределение частот минорных аллелей (MAF) у яровой (а) и озимой (б) пшеницы

преобладание мономорфных маркеров и представленность SNP с MAF менее 0,25.

Оценка аллельного состава генома пшеницы и последующий анализ позволили провести простую дифференциацию методом PCA (рисунок 3), которая отражает деление коллекции по типу озимось/яровость, что также указывает на связь отдельных SNP с данным признаком. Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о высоком генетическом разнообразии пшеницы,

возделываемой на территории Беларуси, и его хорошим потенциале для селекции.

Для изучения генетического потенциала экспериментальной коллекции нами были проведены скрещивания и получены 48 гибридов, в качестве родительских компонентов которых выступали как отечественные, так и зарубежные образцы. Дисперсионный анализ гибридов F_1 выявил существенные различия между ними по всем анализируемым признакам (масса зерна растения, масса и число зерен колоса, масса 1000 зерен колоса, длина колоса, число колосков, плотность колоса, продуктивная

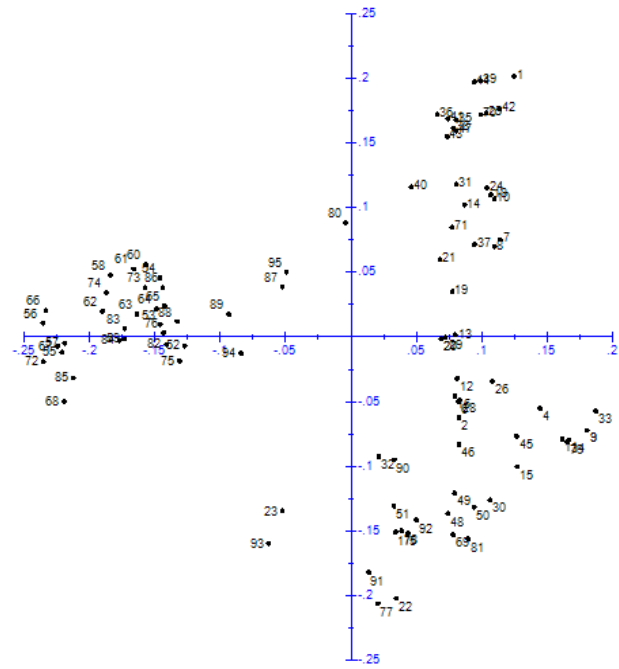


Рисунок 3. – Анализ главных компонент сортового разнообразия коллекции пшеницы, выполненный по данным SNP - маркирования

кустистость, высота растения, длина верхнего междоузлия), за исключением общей кустистости. При анализе эффекта гетерозиса, его достоверные значения также выявлены для всех анализируемых признаков, за исключением высоты растения. При анализе сопряженности GD с эффектом гипотетического гетерозиса выявлены положительные связи для основного компонента урожайности «масса зерна с растения», но уровень его детерминации (r^2 , %) не превышает 12%.

Также положительные ассоциации определены для таких признаков как «масса зерна главного колоса», «масса тысячи зерен», «число колосков главного колоса» и «продуктивная кустистость», однако полученные величины статистически незначимы. Аналогичные результаты получены при корреляционном анализе GD и уровня истинного гетерозиса основных компонентов продуктивности. Здесь слабые достоверные связи существуют между GD и ИГ признака «число колосков главного колоса», но уровень его детерминации не превышает 9%.

Исследования вклада дифференциального полиморфизма (DP), выраженного количеством и соотношением общего числа полиморфных/мономорфных локусов, в реализацию гетеротического потенциала гибридов F_1 выявили некоторые закономерности (таблица 1). Общее число полиморфных локусов и коэффициент соотношения полиморфных и неполиморфных локусов (K) достоверно коррелировали с абсолютным выражением признака «продуктивная кустистость» на уровне 0,36 и 0,32 соответственно, тогда как количество мономорфных локусов было

Таблица 1. – Корреляционный анализ сопряженности генетических дистанций (GD) и дифференциального SNP полиморфизма (DP) с эффектом гетерозиса и абсолютным выражением некоторых признаков гибридов F₁ пшеницы

Показатель		МЗР	МЗК	ЧЗК	МТЗК	ВР	ДВМ	ДК	ОК	ПК	ЧКГК
<i>Абсолютное выражение признака, x</i>											
DP	N полиморф. локусов	0,24	-0,02	-0,02	0,00	-0,13	-0,23	-0,03	0,18	0,36	-0,11
	Nнепол. локусов	-0,22	-0,01	-0,05	0,05	0,22	0,32	0,01	-0,17	-0,32	0,12
	K (N _{пол.} /N _{непол.})	0,22	-0,04	-0,01	-0,03	-0,15	-0,26	-0,04	0,22	0,36	-0,11
GD		0,22	0,04	0,07	-0,03	-0,21	-0,33	0,02	0,12	0,28	-0,10
<i>Гипотетический гетерозис</i>											
DP	N полиморф. локусов	0,40	0,25	0,13	0,30	0,27	0,35	0,08	0,10	0,31	0,33
	Nнепол. локусов	-0,37	-0,26	-0,17	-0,25	-0,26	-0,32	-0,09	-0,09	-0,28	-0,32
	K (N _{пол.} /N _{непол.})	0,39	0,23	0,12	0,29	0,28	0,35	0,06	0,11	0,29	0,35
GD		0,34	0,24	0,17	0,21	0,24	0,27	0,11	0,07	0,27	0,28
<i>Истинный гетерозис</i>											
DP	N полиморф. локусов	0,31	0,24	0,30	0,13	0,15	0,02	0,02	0,12	0,29	0,27
	Nнепол. локусов	-0,28	-0,24	-0,26	-0,07	-0,16	0,01	0,02	-0,09	-0,28	0,30
	K (N _{пол.} /N _{непол.})	0,29	0,25	0,28	0,12	0,14	0,02	-0,01	0,14	0,28	0,27
GD		0,26	0,20	0,24	0,04	0,17	-0,05	0,00	0,07	0,27	0,29

Примечание – Признаки продуктивности: МЗР – масса зерна растения, МЗК – масса зерна колоса, ЧЗК – число зерен колоса, МТЗК – масса тысячи зерен колоса, ВР – высота растения, ДВМ – длина верхнего междоузлия, ДК – длина колоса, ОК – общая кустистость, ПК – продуктивная кустистость, ЧКГК – число колосков главного колоса

связано с этим признаком обратно пропорциональной зависимостью. В отношении проявления эффекта гетерозиса сравнительно с мерой GD, оценка DP имеет более высокий прогностический потенциал. Достоверный вклад числа полиморфных локусов ($r^2 \approx 9-16\%$) в формирование гипотетического и истинного гетерозиса отмечен для признаков «масса зерна растения», «число зерен главного колоса», «число колосков главного колоса», «продуктивная кустистость». Коэффициент соотношения (K) также положительно ассоциирован с перечисленными признаками. Полученные в данном исследовании значения уровня детерминации свидетельствуют о трудностях предсказания гетеротического ответа F₁ на основе оценок GD и DP. Здесь существует несколько возможных объяснений. Основное - значимое влияние условий среды, так как урожайный потенциал реализуется в зависимости от условий выращивания растений. Второй фактор – распределение маркеров и их связь с гетеротическими локусами, либо QTL целевых признаков. Большая часть использованных SNP-маркеров, позволяя выявлять общий полиморфизм ДНК, не соотносится с локусами, ассоциированными с компонентами продуктивности, либо сопряженными путями генных сетей. Помимо этого, не

все маркируемые локусы, относящиеся к кодирующей части генома, могут экспрессироваться в F₁. Отсутствие экспрессии в гетеротических локусах (НТЛ – heterotic traits loci) обесценивает вклад таких локусов в формирование гетерозиса в поколении F₁. Тем не менее, наличие положительных ассоциаций свидетельствует о важности дифференциального полиморфизма родительских линий, выраженного в DP. Учитывая, что число QTL со значительными эффектами для отдельных признаков ограничено, прогноз может быть улучшен отбором маркеров, сцепленных с НТЛ (Heterotic Trait Loci). Вероятно, для формирования гетерозиса наибольшее значение имеет не общая гетерозиготность *per se*, а гетерозиготность отдельных локусов, которые дают значительный суммарный эффект при экспрессии зависимого признака.

Прогностический потенциал различных моделей дивергенции при отборе гетеротических комбинаций у перца сладкого (*Capsicum annuum* L.)

Биохимический и термогравиметрический анализ запасных компонентов семян в определении продуктивного потенциала перца сладкого. Для физико-химических исследований запасных компонентов семян перца сладкого использовали метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ), термогравиметрический (ТГ) и спектрофотометрический анализы. Объектом исследования служили селекционные линии перца сладкого различного географического происхождения, которые испытывались по схеме топкросса 7×4.

При выполнении хроматографического анализа запасных компонентов семян перца сладкого были оценены содержание и соотношение шести насыщенных и девяти ненасыщенных жирных кислот (ж.к.). Исследования показали, что масло семян перца сладкого составляют преимущественно жирные кислоты с числом углеродных атомов C16 и C18, в том числе незаменимые (линолевая, линоленовая, арахидоновая), из них до 77% приходится на линолевую кислоту. Оценка содержания и соотношения фитина и неорганического фосфата в семенах перца сладкого также выявила различия среди экспериментальных образцов. Значительную долю сухого вещества семян составляет фитин, его концентрация достигает 26 мкг/мг, тогда как концентрация неорганического фосфата в основном не превышает 0,75 мкг/мг. Исследование возможности предсказания урожайного потенциала перца сладкого на основе биохимического состава семян позволило заключить, что такие показатели как содержание ненасыщенных жирных кислот, отношение ненасыщенных/насыщенных ж.к., йодное число (характеризует наличие двойных связей в пуле ненасыщенных ж.к.) негативно сопряжены с продуктивностью как в раннем, так и общем урожае. Однако при формировании раннего урожая положительное влияние оказывает высокое содержание насыщенных жирных кислот в семенах перца сладкого. Значение содержания насыщенных жирных кислот для общего урожая немного ослабевает. Также обнаружены положительные корреляции

между количеством запасенных смешанных солей миоинозитгексафосфорной кислоты (фитина), фосфора и такими компонентами урожая, как количество и масса плодов с растения (таблица 2). Содержание фитина в покоящихся семенах высоко

Таблица 2. - Корреляционный анализ связи содержания запасных компонентов семян с продуктивностью перца сладкого

Показатель	Ранний урожай		Общий урожай	
	масса плодов с растения	кол-во плодов с растения	масса плодов с растения	кол-во плодов с растения
Содержание ненасыщенных ж.к.	-0,64*	-0,63**	-0,35*	-0,41*
Содержание насыщенных ж.к.	+0,56*	+0,37*	+0,29	+0,27
Отношение ненасыщенные/насыщенные ж.к.	-0,70*	-0,71**	-0,42*	-0,50*
Йодное число	-0,47*	-0,33	-0,32	-0,39*
Содержание фосфора	+0,47*	+0,31	+0,30	+0,34*
Содержание фитина	+0,71**	+0,71**	+0,77**	+0,79**
Отношение фитин/фосфор	-0,30	-0,24	-0,05	-0,04

Примечание – Уровни значимости: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

сопряжено также и с общим урожаем.

Полученные данные подтверждают предположение о важной роли содержания и соотношения жирных кислот семян в обеспечении стартового преимущества растений при прорастании, которое опосредует эффективную реализацию их генетического потенциала в процессе онтогенеза. Результаты также свидетельствуют о том, что такие показатели запасных компонентов семени как содержание неорганического фосфата и фитина положительно коррелируют с продуктивностью у перца сладкого, при этом наиболее значимое влияние на формирование общего и раннего урожая оказывает содержание миоинозитгексафосфорной кислоты (фитина). Следовательно, такой показатель как содержание фитина в семенах может использоваться на практике при отборе высокопродуктивных форм перца сладкого.

При проведении ТГ-анализа кинетических параметров семян перца сладкого оценивали потерю массы образцов и энергию активации на этапах последовательной деструкции протеинов (230-300°C), жирных кислот (300-400°C), свободных нуклеотидов и нуклеиновых кислот (400-550°C). В результате выявлены различия между линиями в величине энергии активированного состояния (E_a), которая является одним из показателей качественного состава анализируемых образцов.

Исследование возможности использования кинетических параметров ТГ в качестве критерия для предсказания продуктивности растений выявило достоверно положительные связи между величиной энергии активации (E_a) первого этапа (деградация белков) и массой плодов с растения в раннем урожае (таблица 3). Сила связи с общим урожаем ослабевает. Показатели II, III, IV этапов термодеструкции не

Таблица 3. - Корреляционный анализ связи продуктивности перца сладкого с величиной энергии активированного состояния (E_a), определяемой на разных этапах термодеструкции семян

Показатель	Ранний урожай		Общий урожай	
	масса плодов с растения	кол-во плодов с растения	масса плодов с растения	кол-во плодов с растения
E_a (I)	0,42*	0,22	0,36	-0,04
E_a (II)	-0,47*	-0,42*	-0,51**	0,19
E_a (III)	-0,03	-0,02	-0,34	0,05
E_a (IV)	0,10	-0,23	0,12	-0,21

Примечание – Уровни значимости: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$

коррелируют с продуктивностью растений. Таким образом, при формировании и развитии растений наибольшее значение имеют содержание и состав белков семени.

Анализ сопряженности уровня гетерогенности линий, оцененной по данным ТГ, с эффектом гетерозиса F_1 , показал, что между анализируемыми показателями существуют достоверные положительные связи ($r=0,44-0,52$), с гипотетическим и истинным гетерозисом.

Минимизация внутрикластерной изменчивости методом К-средних (*Statistica*, 99) позволила провести простую дифференциацию генотипов на группы и рассмотреть преобладающие тенденции в меж- и внутригрупповых скрещиваниях (рисунок 4). Согласно схеме, внутригрупповые расстояния меньше межгрупповых. Дистанции между группами I-II больше, чем расстояния I-III. Межгрупповые расстояния II-III меньше, чем I-III.

Анализ эффекта гетерозиса у гибридов, полученных в межгрупповых скрещиваниях, показал, что использование в гибридизации линий с величиной дистанций 17 и более геометрических величин позволяет получать высокогетерозисное потомство. Например, среди гибридов, полученных с участием линий первой группы отмечен наибольший эффект истинного гетерозиса по признаку масса плодов с растения (24-81%). Величина гипотетического гетерозиса по этому признаку в отдельных комбинациях также с участием линий I группы достигала 117%. В то же время

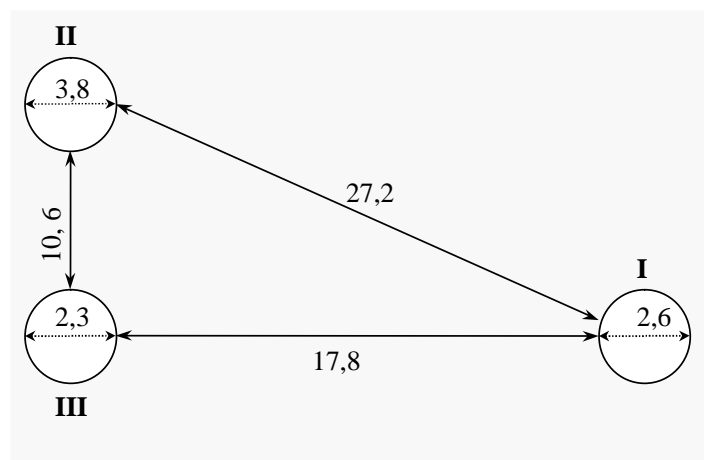


Рисунок 4. - Трехкластерная модель гетерогенности коллекции перца сладкого, построенная по данным анализа К-средних с минимизацией внутригрупповых дистанций

внутрикластерные скрещивания в пределах II и III групп не приводили к увеличению выражения признака в F_1 - наблюдаемые эффекты были в основном отрицательными.

Полученные результаты свидетельствуют в пользу возможности использования кинетических показателей термодеструкции семян перца сладкого для анализа гетерогенности исходного селекционного материала и создания гетеротических групп.

ДНК-маркеры, как критерий отбора перспективных комбинаций у перца сладкого. Представленные в данном разделе исследования выполнены с применением различных подходов ДНК анализа (RAPD, ISSR, SSR) и использованием материала из коллекции Института овощеводства и Института генетики и цитологии НАНБ, проходившего испытания в период 2006-2014 гг. в трех диаллельных (5×5 , 6×6 и 5×5), одной топкроссной (1×9) и одной циклической (A×B, B×C, C×D... I×A) схемах скрещивания.

Изучение гибридов перца сладкого с последующей оценкой характера проявления ряда количественных признаков, комбинационной ценности родительских линий и эффекта гетерозиса в F_1 по основным компонентам продуктивности выявило высокосignимые различия между генотипами по большинству анализируемых показателей. Средние квадраты (*MS*), обусловленные общей комбинационной способностью значимо отличались от *MS* случайных отклонений ($P < 0,01$) для массы, количества плодов с растения и средней массы плода. *MS* специфической комбинационной способности также значимы. Это говорит о том, что между экспериментальными линиями как по общей, так и по специфической комбинационной способности существуют достоверные различия

Схема I – полная диаллель 5×5 . Исследование сопряженности величины эффекта гетерозиса у диаллельных гибридов F_1 перца сладкого и уровня генетической дивергенции GD исходных родительских форм, оцененной на основе RAPD-скрининга, показали, что существуют положительные ассоциации для признаков «масса плодов с растения» ($r=0,39$), «средняя масса плода» ($r=0,33$) и «диаметр плода» ($r=0,41$). Тем не менее, эти величины не столь высоки, чтобы обеспечить эффективный подбор компонентов гибридизации только на основании молекулярных маркеров. Оценка корреляций среди прямых и реципрокных гибридов выявила смещение связи: её сила возрастает у прямых ($r=0,44$) и уменьшается ($r=0,37$) у реципрокных гибридов, например, по признаку «масса плодов с растения», свидетельствуя о роли материнской цитоплазмы. При этом для реципроков определен существенный вклад RAPD GD ($r^2=0,63^2=0,40$) в детерминацию признака «диаметр плода».

Схемы II-III - циклическое скрещивание, топкросс 1×9 . Для оценки GD рассматривали полиморфизм анонимных последовательностей ДНК, полученных в

результате RAPD и ISSR анализов коллекции образцов перца. В результате отобрали 9 линий с различным уровнем GD для проведения испытаний в циклическом скрещивании (схема II) и системе топкросса (схема III).

Анализ детерминации (r^2) урожайного потенциала гибридов F_1 на основе оценки генетической дивергенции показал, что 38% вариаций F_1 перца сладкого в общем сборе (МПП) являются результатом ISSR дивергенции, и 42% обусловлено RAPD GD исходных линий (таблица 4). При дифференциации F_1 на группы обнаружено, что продуктивность гибридов циклического скрещивания на 86% предопределена ISSR GD и на 69% - RAPD GD, тогда как вклад ДНК дивергенции в вариацию F_1 схемы III статистически не значим. Влияние уровня GD на реализацию генетического потенциала F_1 по признакам ЧПР, МсрП, ДлП, ШП также высоко значимо.

Таблица 4. – Корреляционные связи генетических дистанций, рассчитанных на основе 3-х подходов, средней родителей (P_1 , P_2) и абсолютных величин некоторых хозяйственно-ценных признаков F_1

Признаки и группа		МПП	ЧПР	МсрП	ДлП	ШП
Total GD	все гибриды	0,68**	0,75**	-0,54*	0,75**	-0,81**
	схема II	0,95**	0,76*	-0,33	0,66	-0,67*
	схема III	-0,29	-0,10	-0,30	0,40	-0,53
ISSR GD	все гибриды	0,62**	0,79**	-0,64**	0,79**	-0,86**
	схема II	0,93**	0,87**	-0,46	0,87**	-0,78*
	схема III	-0,43	0,00	-0,67*	-0,13	-0,45
RAPD GD	все гибриды	0,65**	0,63**	-0,40	0,63**	-0,68**
	схема I	0,83**	0,60	-0,20	0,45	-0,51
	схема II	-0,06	-0,14	0,11	0,47	-0,27

Примечание 1 – Уровни значимости: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$;

Примечание 2 – Признаки продуктивности: МПП – масса плодов с растения, ЧПР – число плодов с растения, МсрП – средняя масса плода, ДлП – длина плода, ШП – ширина плода

Объединение двух маркерных систем для оценки GD в основном незначительно меняет прогностический уровень каждого из подходов. Вероятно, это обусловлено частичным перекрытием информации двух маркерных наборов ($r=0,75^{**}$).

Полученные для двух выборок гибридов (схемы II и III) данные указывают на важность числа сегрегирующих локусов для проявления гетерозиса. Очевидно, воспроизведённый в тестерном скрещивании 1×9 (схема III) дивергентный ряд характеризуется ограниченным числом сочетаний полиморфных (потенциальных гетеротических) локусов относительно общего материнского компонента, который *per se* обладает устойчивым комплексом генетических детерминант, определяющих его высокий потенциал урожайности. Напротив, для F_1 циклического скрещивания (схема II), которые представляют сравнительно большее разнообразие вариантов сочетаний локусов, обнаружены более тесные положительные связи показателей GD с гетерозисом.

Схемы IV-V – полные диаллельные скрещивания 5×5, 6×6. Исследовали две группы (красноплодные конические, желтоплодные) линий перца сладкого, участвующие в селекционной программе Института овощеводства, направленной на увеличение признаков «длина плода» (схема IV) и «масса плодов с растения» (схема V). Каждая группа представлена фенотипически сходными образцами, но различающимися по своему эколого-географическому происхождению. Для оценки ДНК-полиморфизма использовали анализ анонимных (RAPD, ISSR) и микросателлитных (SSR) последовательностей ДНК.

Оценка вклада GD в формирование гетеротического ответа F₁ выявила достоверные связи RAPD и ISSR GD с величинами гипотетического и истинного гетерозиса по признаку «масса плодов с растения» для прямых гибридов ($r=0,6$) схемы IV (таблица 5). Вместе с тем дивергенция анонимных последовательностей ДНК оказывала значительное влияние ($r=0,54$) на реализацию признака «средняя масса плода» обратных гибридов. Для всей совокупности диаллельных гибридов схемы IV величина связей ISSR-RAPD GD с этим признаком достигала 0,48.

Анализ связи SSR GD с эффектом гетерозиса гибридов схемы IV показал, что генетическая дивергенция достоверно и положительно ассоциированы с уровнем ГГ и ИГ F₁ для таких признаков как «средняя масса» и «длина плода». При этом уровень

Таблица 5. – Характеристика связи SSR GD с эффектами гипотетического (ГГ) и истинного (ИГ) гетерозиса F₁ перца сладкого

Показатель		Схема IV (5×5)			Схема V (6×6)		
		все гибриды	прямые гибриды	обратные гибриды	все гибриды	прямые гибриды	обратные гибриды
ГГ	МПР	-0,31	-0,16	-0,43	0,04	-0,24	0,26
	ЧПР	-0,56**	-0,48	-0,67*	0,08	-0,25	0,38
	МсрПл	0,42*	0,25	0,62*	-0,13	0,04	-0,27
	ДлПл	0,62**	0,70*	0,55	0,56**	0,42	0,73**
ИГ	МПР	-0,32	-0,28	-0,36	0,12	-0,2	0,33
	ЧПР	-0,48**	-0,32	-0,61	0,1	-0,23	0,4
	МсрПл	0,47**	0,12	0,7	0,01	0,04	0,01
	ДлПл	0,52**	0,71*	0,43	0,46**	0,22	0,55*

Примечание 1 – Уровни значимости: * - $P<0,05$; ** - $P<0,01$

Примечание 2 – Признаки продуктивности: МПР – масса плодов с растения, ЧПР – число плодов с растения, МсрПл – средняя масса плода, ДлПл – длина плода

детерминации гетерозиса для признаков «длина плода» выше у прямых гибридов ($r=0,7$), «средняя масса плода» – у обратных ($r=0,62-0,7$) (таблица 5).

Для F₁ схемы V уровень дивергенции микросателлитных локусов, как и в случае схемы IV, имеет наибольшее значение для выражения признака «длина плода». Отмечены достоверные связи с абсолютным значением этого признака, истинным и гипотетическим гетерозисом.

Дифференциальный полиморфизм SSR локусов, определяемый числом и соотношением полиморфных локусов, наибольшее значение имеет при реализации

признака «длина плода». Вклад числа полиморфных локусов в проявление ГГ у гибридов схемы IV по этому признаку достигает 46%, для ИГ – 26%. Коэффициент соотношения числа полиморфных и неполиморфных локусов предопределяет гетеротический потенциал гибридов F_1 на 49% и 37% для ГГ и ИГ соответственно. Уровень детерминации ГГ для длины плода прямых гибридов достигает 56%.

Оценка сопряженности анализируемых показателей в схеме 6×6 каких-либо значимых ассоциаций не выявила. Вероятно, это связано с тем, что некоторая часть анализируемых SSR-локусов сцеплена с генетическими факторами, контролирующими реализацию признака «длина плода», на что косвенно указывает сопряженность SSR GD и дифференциального полиморфизма DP с гетерозисом и абсолютным выражением этого признака в F_1 .

Причем значение GD и DP наиболее выражено для конических форм (схема IV), селекционный отбор среди которых направлен на увеличение признака «длина плода». Наличие отрицательных связей GD с массой и числом плодов с растения выглядит закономерным при допущении существования сцепления между использованными маркерами и признаком «длина плода».

Полученные результаты свидетельствуют о том, что прогностический потенциал молекулярных маркеров варьирует в зависимости от признака. При этом значительная доля фенотипической вариации в F_1 может быть объяснена полиморфизмом ДНК-локусов. Отсутствие тесных связей GD и DP с гетерозисом связано с такими особенностями количественных признаков, как полигенный контроль и низкая наследуемость. Учитывая, что реализация гетерозиса обусловлена кумулятивным действием многих генетических составляющих, т.е. является результатом экспрессии многих локусов с малыми эффектами, представляется перспективным проводить отбор исходного материала по локусам, ассоциированным с сопряженными с урожаем признаками. В целом, результаты молекулярно-генетического исследования подтверждают целесообразность использования ДНК-маркирования для оценки исходного материала и отбора перспективных комбинаций скрещивания в селекции перца сладкого на гетерозис.

Статус метилирования ДНК в связи с реализацией гетеротического потенциала F_1 перца сладкого. С целью изучения статуса метилирования генома перца сладкого и установления роли эпигенетической модификации в реализации продуктивного потенциала F_1 , нами проведен ДНК-скрининг коллекции линий перца сладкого на основе ПЦР-ПДРФ с использованием метилчувствительных ферментов рестрикции HpaII, MspI и 4 праймеров (Hp/Ms-tcaa, Hp/Ms-tctc, Hp/Ms-tctt, Hp/Ms-tcat).

В процессе исследований сравнительный анализ показал существование различий между исходными линиями и гибридами F_1 по ряду ері-аллелей (рисунок 5). На стадии проростков рассмотрено 203 локуса, из которых 24 выявляли

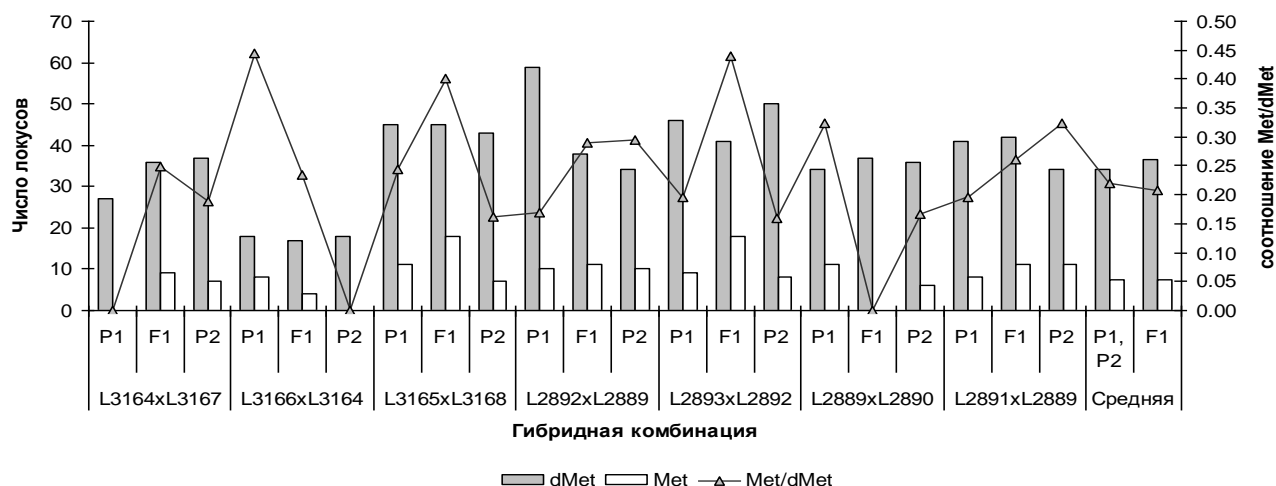


Рисунок 5. – Общая характеристика статуса метилирования гибридов и их родительских линий

вариабельность в статусе метилирования. Обнаружены различия между исходными родительскими линиями (P₁, P₂) как в структурном полиморфизме AFLP-локусов, так и их ери-аллельной вариабельности. В парных комбинациях P₁ и P₂ встречались следующие сочетания аллельных вариантов: Met²/dMet^{**}; dMet/dMet; Met/Met; Met/0^{***}; dMet/0. Примечательно, что на стадии 14 дневных проростков гибриды характеризовались статусом dMet, за исключением отдельных аллелей, по которым оба родителя были метилированы (вариант Met/Met) и гибрид также наследовал статус Met. Полученные данные позволяют предположить, что при гибридизации стартовое преимущество гибридов F₁ может быть обусловлено снижением эффекта метилирования и, как следствие, повышением уровня экспрессии генов, что может способствовать гетерозису.

При изучении статуса метилирования на стадии цветения у исходных линий и гибридов перца сладкого было рассмотрено 95 AFLP локусов, из них дифференциально метилированы между родителями - 83, а также выявлено среди гибридов 62 варианта *de novo*. Из семи проанализированных гибридов три (L3164xL3167, L2893xL2892, L3165xL3168) обладали повышенным уровнем метилирования анализируемых локусов в сравнении с родителями. У гибрида L2889xL2890 наблюдалось гипометилирование, тогда L3166xL3164, L2892xL2889, L2891xL2889 были метилированы аддитивно, т.е. в пределах диапазона родителей. По коэффициенту соотношения метилированных локусов к неметилированным (Met/dMet) наибольшие показатели соответствуют гибридам F₁ L2893xL2892 и L3165xL3168, наименьший – L2889xL2890.

Анализ сопряженности статуса метилирования F₁ и уровня проявления гетерозиса показал, что общее число неметилированных локусов в F₁ коррелирует ($r=0,65$) с гипотетическим гетерозисом по признаку «масса плодов с растения», тогда как влияние метилированных локусов не достоверно (таблица 6). При этом уровень детерминации гипотетического гетерозиса эпигенетическим статусом dMet ($r^2=82\%$)

² Met – локус метилирован, ** - локус деметилирован, *** 0 - локус не выявлен

Таблица 6. – Анализ сопряженности статуса метилирования с проявлением истинного и гипотетического гетерозиса в F₁ перца сладкого

Образцы	Показатель	Масса плодов растения			Кол-во плодов растения			Средняя масса плода		
		dMet	Met	K*	dMet	Met	K*	dMet	Met	K*
Схема IV (5×5)	ИГ	-0,44	-0,91	-0,93	0,01	-0,69	-0,73	-0,70	-0,90	-0,90
	ГГ	0,91	0,86	0,84	0,46	0,69	0,72	0,52	0,01	-0,05
Схема V (6×6)	ИГ	0,86	0,99	0,99	0,99	0,98	0,88	-0,95	-0,77	-0,57
	ГГ	0,75	0,94	1,00	0,96	1,00	0,94	-0,93	-0,73	-0,51
Общее	ИГ	0,34	-0,42	-0,67	0,65	-0,08	-0,38	-0,67	-0,84	-0,76
	ГГ	0,65	0,50	0,34	0,74	0,52	0,34	-0,70	-0,39	-0,19

Примечание - * - K – коэффициент соотношения Met/dMet

значительно выше для гибридов схемы IV.

Интересен тот факт, что гибрид L2889×L2890 характеризуется отсутствием метилирования во всех проанализированных локусах относительно родителей и при этом проявляет наиболее высокий гетерозисный эффект по массе и количеству плодов с растения, а также средней массе плода. В целом для красноплодных форм перца (схема IV) наибольшее значение ($r=0,91$) имеет снижение эффекта метилирования по ряду локусов и несколько меньший вклад ($r=0,86$) привносит метилирование *de novo*. Для желтоплодных форм существует линейная зависимость между соотношением метилированных и неметилированных локусов (Met/dMet) и уровнем гипотетического гетерозиса.

Наибольший вклад дифференциальное метилирование в нашем исследовании имело при формировании гетеротического ответа для таких признаков, как «число плодов с растения» и «средняя масса плода», указывая на важную роль эпигенетических модификаций в реализации потенциала гибридных растений. При этом преобладающая роль дифференциального метилирования сохранялась для признака «количество плодов с растения», наибольший вклад которого отмечен для гибридов схемы V.

Существование тесных связей между гетерозисом и числом как метилированных, так и неметилированных локусов свидетельствует о том, что гибридизация обуславливает возникновение эпигенетических модификаций гибридного генома, которые связаны как с метилированием, так и снятием его эффекта на различных этапах онтогенеза. Такие модификации влияют на функциональное состояние различных генов, вызывая каскадные реакции в генных сетях, которые в свою очередь могут приводить к оптимальному протеканию биохимических реакций, т.е. метаболизма и способствовать формированию гетеротического ответа на уровне гибридного генома.

Различия в эпигенетическом статусе ДНК генетически сходного материала способны объяснить проявление гетерозиса при скрещивании близкородственных форм, а также отсутствие линейной связи между уровнем структурной ДНК-дивергенции и проявлением гетерозиса в F₁.

Молекулярно-генетическая дивергенция как критерий отбора гетеротических комбинаций у томата (*Solanum lycopersicum* L.)

В данном исследовании оценивали прогностический потенциал ДНК маркеров для отбора перспективных комбинаций скрещивания у томата. Для этого проводили молекулярный анализ с использованием произвольных (RAPD, ISSR) и специфических (SSR) праймеров. Скрещивания выполняли по схеме топкросса 4×6.

Основываясь на данных проведенного анализа, которые позволили установить иерархические связи между экспериментальными формами, оценить комбинационную ценность линий и эффект гетерозиса у гибридов F₁, мы исследовали перспективы использования молекулярных маркеров для предсказания генетического потенциала томата при его селекции на гетерозис.

Проведенные исследования показали, что уровень общей ДНК-дивергенции, оцененный на основе 3-х ПЦР-подходов с использованием в совокупности 58 RAPD, ISSR и SSR праймеров высокодостоверно ($r=0,55^{**}$) ассоциирован с истинным гетерозисом топкроссных гибридов F₁ томата по признаку «масса плодов растения». Позитивный вклад общей дивергенции в реализацию как истинного, так и гипотетического гетерозиса отмечен для признаков «масса плодов с растения» и «число плодов с растения». Для признака «средняя масса плода» также отмечены положительные ассоциации с GD, но их уровень статистически незначим. В наибольшей степени выявленные связи обусловлены полиморфизмом микросателлитных локусов. SSR дивергенция оказывает положительное влияние на проявление гетерозисного эффекта F₁ по признакам «масса плодов с растения» и «число плодов с растения». Так, величина сопряженности SSR дивергенции с эффектом истинного и гипотетического гетерозиса по массе плодов достигала 0,46 и 0,48 соответственно. По признаку «число плодов с растения» корреляции с SSR GD составили 0,40 для гипотетического и 0,49 – для истинного гетерозиса. Интересен тот факт, что наибольшие значения как истинного, так и гипотетического гетерозиса по продуктивности растения получены в F₁ от комбинации наиболее дивергентных родителей L8397 и L7614 (SSR GD = 79,3; total GD = 15,83). Сходным образом самые низкие негативные значения гетерозиса отмечены в потомстве наименее дивергентных родителей L8705 и L8129 (SSR GD = 13,3; total GD = 4,9).

Поскольку выявление потенциальных гетеротических маркеров возможно при анализе комбинаций, проявляющих истинный гетерозис по целевым признакам, мы отобрали 9 комбинаций, в которых гибриды проявляли положительный либо отрицательный истинный гетерозис по таким компонентам урожая как «масса» и «количество плодов с растения». Такой подход позволил исключить из анализа «негативные» (негетеротические) сочетания аллелей. При анализе связи GD с гетерозисом в данной выборке генотипов, мы обнаружили, что суммарная оценка GD позитивно коррелирует с ИГ на уровне 0,51-0,9 и с ГГ на уровне 0,61-0,81, в

зависимости от признака (таблица 7). При этом основной вклад (56-90%) в детерминацию гетерозиса основных компонентов урожая вносят SSR-GD. В связи с определяющей ролью SSR GD, мы провели подсчет числа и соотношения полиморфных и мономорфных SSR локусов в каждой парной комбинации для оценки DP и выполнили корреляционный анализ. Результаты показали, что для общей выборки генотипов существуют достоверные положительные связи между общим числом полиморфных локусов, истинным и гипотетическим гетерозисом (0,42-0,47). В то же время, дифференциальный полиморфизм в выборке гетерозисных комбинаций предопределяет (r^2) превосходство гибридов F_1 над лучшим и средней обеих родителей на 75% и 84% соответственно. Число мономорфных локусов связано с гетерозисом обратно пропорциональной

зависимостью. Высокую прогностическую ценность согласно нашим результатам имеет коэффициент соотношения числа полиморфных локусов к общему числу мономорфных локусов. Помимо этого, в нашем эксперименте наблюдался значимый вклад дифференциального полиморфизма родительских форм в константу SKC, позволяя обсуждать селекционную ценность отдельных комбинаций на основе этого показателя. Полученные результаты позволяют рассматривать отдельные сочетания SSR локусов в данной группе генотипов, как потенциальный прогностический критерий для отбора перспективных пар скрещивания.

Полученные результаты подтверждают, что общая и локус-специфическая гетерозиготность имеют важное значение при формировании гетеротического ответа в F_1 . Поэтому, оценка молекулярно-генетического полиморфизма может быть полезна для предсказания перспективных комбинаций, однако, для понимания генетических основ гетерозиса и его эффективного практического использования необходимо проводить детализацию GD и DP на основе выбора «позитивных» маркеров, т.е. обеспечивающих выявление потенциальных гетеротических локусов.

Таблица 7. - Анализ связи генетических дистанций с эффектом истинного и гипотетического гетерозиса в выборке гетерозисных комбинаций томата

Показатель		SSR GD	ISSR GD	RAPD GD	Общая GD
x_i	МсрПл	0,04	0,08	-0,48	-0,05
	МПП	0,30	-0,68*	-0,15	-0,03
	КПП	0,27	-0,67*	-0,11	-0,04
ГГ	МсрПл	0,73*	0,30	0,17	0,69*
	МПП	0,95**	0,05	0,31	0,81**
	КПП	0,89**	-0,08	0,37	0,74*
ИГ	МсрПл	-	-	-	-
	МПП	0,84**	0,44	0,43	0,90**
	КПП	0,75*	-0,34	0,25	0,51
s_{ij}	МсрПл	0,86**	-0,20	0,36	0,68*
	МПП	0,82**	-0,32	0,19	0,57
	КПП	0,79*	-0,27	0,17	0,57

Примечание 1 – Уровни значимости: * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$;

Примечание 2 – Показатели: ГГ – гипотетический гетерозис, ИГ – истинный гетерозис, s_{ij} – константа специфической комбинационной способности, x_i – средняя абсолютного выражения признака; МсрПл – средняя масса плода, МПП – масса плодов с растений, КПП – количество плодов с растений

Генетическая дивергенция в реализации гетеротического потенциала капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.)

В процессе исследования *B.oleracea* оценивали молекулярно-генетический полиморфизм ДНК селекционных форм РУП Институт овощеводства на основе RAPD, ISSR и SSR подходов. По результатам оценки для гибридизации по двум диаллельным схемам скрещивания 5×5 и 8×8 были отобраны образцы с различным уровнем GD, отвечающие требованиям селекции по характеру выражения основных признаков.

Оценка вклада GD родительских форм в реализацию генетического потенциала гибридов F₁ схемы 5×5 позволила выявить значимые корреляции величины генетических дистанций с абсолютными значениями хозяйственно-важных признаков гибридов F₁ (таблица 8). Так, общая GD, оцененная на основе двух

Таблица 8. – Коэффициенты корреляции между GD родительских линий капусты белокочанной и показателями продуктивности их диаллельных гибридов F₁ (схема 5×5)

Показатель		Вегетативная масса растения	Масса кочана	Объем кочана	Масса кочана/ масса розетки
Общая GD	все гибриды	0,26	0,46*	0,45*	0,67**
	прямые гибриды	0,46	0,66*	0,63*	0,78**
	реципрокные гибриды	-0,02	0,19	0,19	0,58
RAPD GD	все гибриды	0,41	0,51*	0,50*	0,55*
	прямые гибриды	0,65*	0,80**	0,74*	0,79**
	реципрокные гибриды	0,09	0,1	0,14	0,15
ISSR GD	все гибриды	0,11	0,23	0,21	0,32
	прямые гибриды	0,08	0,21	0,16	0,32
	реципрокные гибриды	0,06	0,12	0,16	0,18

Примечание – Уровни значимости: * - P<0,05; ** - P<0,01

подходов (ISSR, RAPD), была позитивно ассоциирована с массой, объемом и плотностью кочана. Наиболее тесные связи обнаружены для признака отношение массы кочана к массе розетки, в формирование которого вклад дивергенции родительских форм (r^2) составил 44%. При этом наибольшее значение для F₁ имела дивергенция RAPD- локусов.

Анализ связи между GD и эффектом гетерозиса в F₁ не выявил достоверных связей, за исключением признака «плотность кочана», для которого установлены положительные корреляции с ISSR дивергенцией.

Оценка вклада полиморфизма анонимных последовательностей ДНК в реализацию продуктивного потенциала гибридов схемы 8×8 не выявила связей, однако GD и DP SSR-локусов были достоверно положительно ассоциированы ($r = 0,34-0,36$ при P<0,05) с абсолютным выражением признака «средняя масса кочана» гибридов F₁, в т.ч. по группам (рисунок 6).

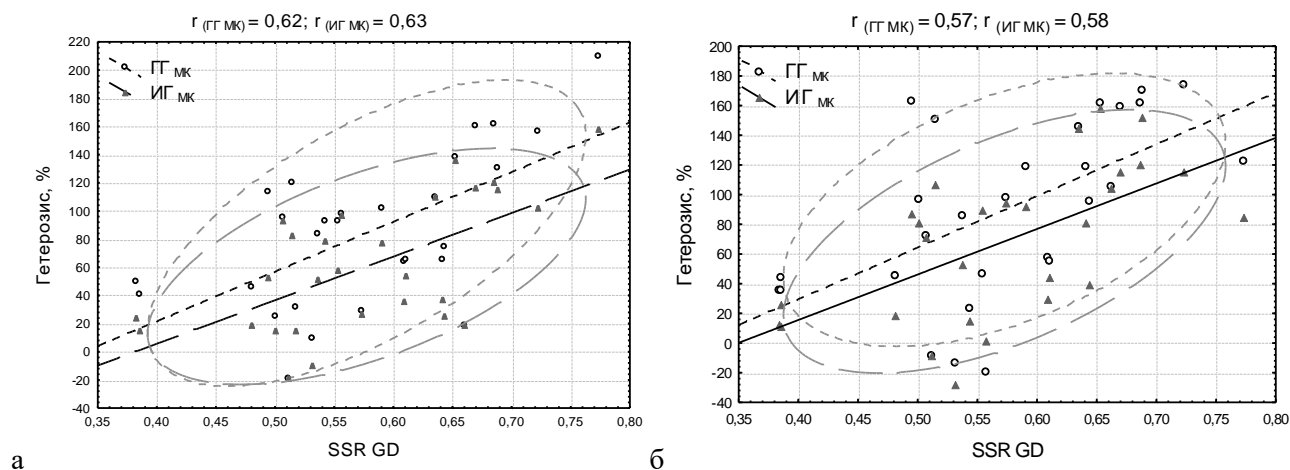


Рисунок 6. - Распределение вариант в корреляционной решетке при анализе связи SSR GD со степенью проявления гетерозиса у прямых (а) и реципрокных (б) гибридов по признаку «масса кочана»

Также SSR GD оказывали значительное влияние на формирование гетеротического ответа F_1 по признакам «масса кочана» и «диаметр кочана». Тесные ассоциации SSR GD, истинного и гипотетического гетерозиса по признаку «масса кочана» наблюдались как у прямых ($r=0,63; 0,62$), так и реципрокных гибридов ($r=0,57; 0,58$), а по признаку «диаметр кочана» – у реципрокных ($r=0,51; 0,54$). В этой группе F_1 также были обнаружены значимые положительные связи SSR GD с ИГ и ГГ для признака «высота кочана» – $r=0,42; 0,40$ соответственно.

Изучение роли дифференциального полиморфизма микросателлитных локусов для проявления гетерозиса показало, что вклад общего числа полиморфных локусов и их соотношения имеет значение для признаков «масса кочана» и «диаметр кочана», однако прогностическая способность этого критерия ниже, чем обобщенная оценка генетических взаимоотношений, выраженная через GD.

Результаты исследований свидетельствуют, что *B.oleracea*, благодаря биологическим особенностям размножения, обладает высокой степенью внутривидового полиморфизма, который представляет значимый потенциал для селекции. Однако только часть выявляемой у этой культуры гетерогенности ассоциирована с гетерозисом F_1 . Использование данных об общем полиморфизме оказывает положительное влияние при выборе гетерозисных комбинаций скрещивания и может служить дополнительным критерием отбора, наряду с классическими подходами.

Принципы оптимизации отбора исходного материала в селекции на гетерозис, базирующиеся на оценке генетической дивергенции

Обобщая результаты наших исследований, в рамках которых изучена применимость различных подходов для дифференциации селекционного материала и прогнозирования конечного продуктивного эффекта F_1 , можно поддержать заключение о важной роли гетерозиготности F_1 , обусловленной полиморфизмом

геномов исходных родительских форм.

В целом, применимость биометрического подхода для оценки уровня дивергенции исходного материала вызывает сомнения. Если в одних исследованиях вклад оценки ED в реализацию потенциала F_1 достигал 31%, то в других его эффективность не подтверждалась. Фенотипические признаки обладают высокой вариабельностью, полигенны и подвержены влиянию внешних факторов, что накладывает существенные ограничения на использование биометрической модели дивергенции для отбора. При этом классический генетический анализ количественных признаков как характеристический подход при отборе сохраняет свою ценность.

Различные биохимические подходы показали разную прогностическую способность (таблица 9). Достоверные значения коэффициента детерминации генетического потенциала F_1 определены для таких показателей как содержание фосфора и фитина, жирно-кислотный состав и кинетические показатели термодеструкции семян. Применимость и эффективность биохимической модели показана для перца сладкого (признаки «масса плодов с растения» и «число плодов с растения») - детерминация потенциала растений содержанием таких запасных компонентов семян как фитин, фосфор, насыщенные ж.к., достигает уровня 22-60%,

Таблица 9. - Обобщенный анализ прогностического потенциала различных маркерных систем

Маркерная система		GD		DP	
		<i>r</i>	<i>r</i> ² , %	<i>r</i>	<i>r</i> ² , %
T. aestivum	ED	-0,47	22,1* ⁻		
	Изоферменты	-0,33	10,9* ⁻	-	-
	RAPD	-0,3-+0,28	<7,8		
	SNP	0,26-0,34	<11,6*	0,29-0,4	<16,0*
S. annuum	Фитин семян	0,71-0,77	<59,3*		
	Фосфор	0,3-0,47	<22,1*		
	Насыщ.ж.к	0,29-0,56	<31,4*		
	Ea(TГ)	0,44-0,52	<27,0*		
	ED	0,19	<18,5*	-	-
	RAPD	0,39 -0,65	<42,2*		
	ISSR	0,3-0,62	<38,4*		
	RAPD-ISSR	0,19-0,68	<46,2*		
	SSR	0,46-0,64	<38,4*	0,51-0,7	<49*
MSAP			0,34-0,65	<42,2*	
L. esculentum	ED	-0,44-+0,12	<1,4		
	Total GD	0,48-0,55	<30,2*		
	RAPD	0,18-0,19	<3,6	-	-
	ISSR	0,11-0,27	<7,3		
	SSR	0,46-0,48	<23*	0,44-0,92	<84,6*
B. oleracea	ED	0,44-0,56	<31,4*		
	RAPD-ISSR	0,46	21,2*		
	RAPD	0,51	26,0*	-	-
	ISSR	0,23	5,3		
	SSR	0,59-0,6	<36,0*	0,32-0,39	<15,2*

Примечание - * - значимо при $P < 0,05$

что свидетельствует о возможности отбора перспективных генотипов на основе анализа перечисленных показателей.

Термогравиметрический анализ, предоставляя общую характеристику кинетических показателей термодеструкции семян, позволяет классифицировать селекционные коллекции на потенциальные гетеротические группы. Построенная по данным ТГ трехкластерная модель гетерогенности перца сладкого при апробации в тест-кроссе 7×4 подтвердила свою эффективность для отбора гетеротических комбинаций скрещивания.

Все использованные подходы ДНК анализа показали положительный вклад ДНК полиморфизма в реализацию генетического потенциала гибридов F₁ по признакам продуктивности, за исключением данных, полученных в эксперименте с дисомными линиями пшеницы. Выявленные достоверные связи RAPD, ISSR GD с гетеротическим ответом в F₁ достигали 0,19-0,68 для «массы плодов с растения» и «длины плода» у перца сладкого, и 0,23-0,51 для «средней массы кочана» у капусты белокочанной, в зависимости от использованного исходного материала и схемы скрещивания. Достоверные значения вклада в гетеротический ответ F₁ по продуктивности растений отмечены для SSR полиморфизма, который в нашем исследовании обусловил его формирование на 23-38%. Дифференциальный полиморфизм (DP) SSR локусов парных комбинаций скрещиваний имеет более высокую прогностическую ценность, чем показатель GD. Коэффициент детерминации DP для томата и перца сладкого достигал значений 84,6% и 98% соответственно для признака «масса плодов с растения».

Однако в экспериментах с капустой белокочанной его значение ослабевало сравнительно с GD. Вероятно, для перекрестноопыляющихся культур, характеризующихся высокими генетическим разнообразием и высоким полиморфизмом генома, общая гетерозиготность имеет меньшее значение сравнительно с самоопылителями. Здесь большой вклад в продуктивный потенциал растений приносит гетерозиготность в специфических локусах, ассоциированных с целевыми признаками.

Обобщая полученные результаты можно заключить, что оценка полиморфизма исходного материала позволяет оптимизировать селекцию за счет использования в гибридизации дивергентных форм. Полученные данные позволяют рекомендовать следующий алгоритм оптимизации селекционной практики при работе с новыми и базовыми коллекциями, основанный на использовании молекулярно-генетической оценки GD и DP исходного селекционного материала (рисунок 7).

Предложенный алгоритм наиболее эффективен при отсутствии информации о величине генетического пула, происхождении и возможных родственных связях генотипов; для идентификации уникального генетического материала с целью сохранения и обогащения генетического разнообразия; для типирования и отбора потенциальных гетеротических комбинаций.

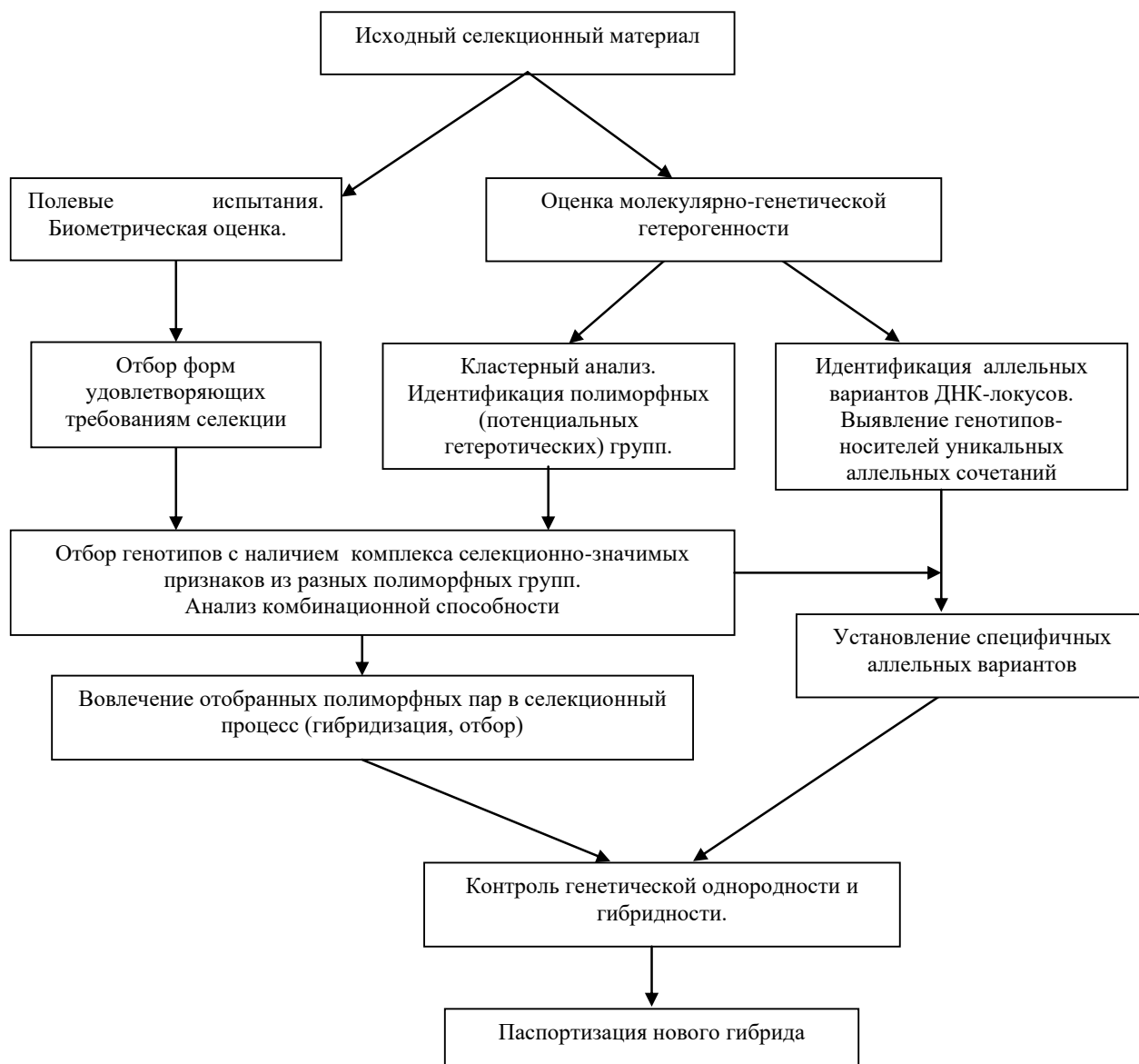


Рисунок 7. – Алгоритм оптимизации селекционного процесса, основанный на использовании данных молекулярно-генетического анализа

Эффективность данного подхода подтверждена на культурах перца, томата и капусты белокочанной при создании новых сортов и гибридов, 6 из которых районированы по республике и 1 проходит государственное сортоиспытание.

В целом, как показали наши исследования, систематизация структуры генофонда базовых селекционных коллекций с сопутствующей оценкой генетических связей между образцами, наряду с классическим генетическим анализом по фенотипу, обеспечивает оптимальный подбор компонентов гибридизации и наиболее эффективное использование представленного разнообразия в селекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В экспериментах, выполненных на культурах пшеницы, томата, перца сладкого и капусты белокочанной показано, что оценка полиморфизма генофонда базовых селекционных коллекций, наряду с классическим генетическим анализом по фенотипу, обеспечивает оптимальный подбор компонентов гибридизации для системных скрещиваний и, соответственно, наиболее эффективное использование представленного разнообразия в селекции. При отсутствии информации о структуре генетических связей исходного материала, оценка молекулярно-генетической дивергенции может служить критерием, позволяющим идентифицировать величину генетического разнообразия селекционных коллекций и отбирать генетически неоднородный материал среди фенотипически сходных форм [3, 11, 13, 19, 20, 21, 23, 24, 26, 31, 33, 37, 40, 51, 53].

В результате ДНК-скрининга с использованием произвольных (RAPD, ISSR) и специфических (SSR, SNP) маркеров, охарактеризован генофонд пшеницы Беларуси, систематизировано разнообразие перца сладкого, томата, капусты белокочанной, определена структура генетических связей и выделены родственные группы генотипов. Полученная информация обеспечивает эффективное управление селекционным материалом, т.к. позволяет: (а) поддерживать разнообразие, путем сохранения доноров редких аллелей, (б) избегать использования близкородственных форм, (в) отбирать полиморфные пары скрещивания при селекции на гетерозис [1-3, 5, 9, 10, 12, 14, 25, 27, 28, 38, 41-44, 46-50, 52-56, 57-60, 63, 64].

2. При анализе биохимического состава запасных компонентов семян в связи с продуктивностью F_1 у перца сладкого показано, что преимущество растений при формировании раннего урожая обеспечивается высоким содержанием таких запасных компонентов семян как фосфор, фитин и насыщенные жирные кислоты, что отмечается наличием положительных корреляционных связей ($r=0,47^*-0,71^{**}$). При этом значение высокого содержания фитина в покоящихся семенах сохраняется и до формирования конечной продуктивности растений ($r=0,77^{**}$) [4, 30, 32, 34, 39].

3. По результатам данных термогравиметрического анализа построена трехкластерная модель гетерогенности коллекции перца сладкого, обосновывающая перспективность использования кинетических показателей термодеструкции семян для дифференциации селекционного материала и создания гетеротических групп. Достоверные положительные связи ($0,52^{**}$) величины энергии активированного состояния $E_a(\Gamma)$ с уровнем гетерозиса позволяют рекомендовать применение термогравиметрического анализа для отбора парных комбинаций скрещивания в селекции перца сладкого на гетерозис [4, 34, 35].

4. При изучении роли ДНК-полиморфизма в проявлении гетерозиса выявлено, что гетеротический потенциал гибридов F_1 в значительной степени детерминирован

дифференциальным полиморфизмом (DP) геномов исходных родительских форм, что позволяет использовать его как критерий отбора при создании гетеротических групп. Вклад DP в реализацию генетического потенциала по отдельным признакам для томата и перца сладкого составляет 19-85% и 26-49% соответственно. Также отмечено его достоверно положительное влияние на проявление гетерозиса у пшеницы (16%) и капусты белокочанной (15%) [16-18, 22, 26-28, 45, 58, 61, 62, 66-68, 70].

5. В результате сравнительного MSAP анализа линий и гетерозисных гибридов перца сладкого получены результаты, которые свидетельствуют о том, что гибридизация способствует возникновению эпигенетических модификаций гибридного генома, которые связаны как с метилированием, так и снятием его эффекта на различных этапах онтогенеза. Общее число неметилованных локусов в F_1 коррелирует ($r=0,65^*$) с гипотетическим гетерозисом по признаку «масса плодов с растения», тогда как влияние метилированных локусов не достоверно. Вероятно, выявленные в эпигеноме *S. annuum* модификации могут изменять функциональное состояние различных генов, обуславливая формирование гетеротического ответа в поколении F_1 .

Различия в эпигенетическом статусе ДНК генетически сходного материала способны объяснить проявление гетерозиса при скрещивании близкородственных форм, а также отсутствие линейной связи между уровнем структурной ДНК-дивергенции и проявлением гетерозиса в F_1 [24, 65, 69].

6. Системные скрещивания, выполненные в культуре томата и перца сладкого, с сопутствующим анализом вариантов, подтвердили важное значение различных типов действия генов (доминирование, сверхдоминирование, эпистаз) для экспрессии гетерозиса и их различное преобладающее значение в зависимости от исследуемого генофонда и структуры целевого признака [6-8, 15]. Наличие значимых связей уровня генетической дивергенции и дифференциального полиморфизма ДНК с продуктивностью F_1 свидетельствует о высоком прогностическом потенциале такой оценки при создании гетеротических групп. Однако, их нелинейный характер подтверждает заключение о том, что наибольшее значение при формировании гетерозиса имеет не общая гетерозиготность *per se*, а гетерозиготность отдельных локусов, которые дают значительный суммарный эффект при экспрессии зависимого признака. Понимание фундаментальных механизмов гетерозиса, ориентирует на необходимость выделения ключевых маркеров, т.е. обеспечивающих выявление гетеротических локусов [11-14, 24, 36, 54, 62].

7. На основе проведенного исследования создан алгоритм оптимизации гетерозисной селекции при работе с новыми и базовыми коллекциями, основанный на использовании молекулярно-генетической оценки ДНК-полиморфизма. Использование данного алгоритма позволило сократить сроки создания новых конкурентоспособных форм. Эффективность предложенного подхода подтверждена

на культурах перца, томата и капусты белокочанной при создании коллекций перспективных линий, новых сортов и гибридов, 7 из которых районированы по республике и 1 проходит государственное испытание [13, 29, 68].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Для повышения эффективности селекционного процесса пшеницы, томата, перца сладкого и капусты белокочанной рекомендуется использовать научно-обоснованный алгоритм оценки исходного селекционного материала, базирующийся на использовании молекулярных маркеров. Предложенный алгоритм позволяет оптимизировать отбор форм, обладающих высоким генетическим потенциалом при планировании скрещиваний в селекции на гетерозис.

2. Для увеличения эффективности сельскохозяйственного производства овощных растений в Беларуси рекомендуется использование созданных при выполнении исследований 7 высокоурожайных адаптированных к местным условиям гибридов перца сладкого - Мастер (свидетельство селекционера №0003796), Варяг (свидетельство селекционера №0004565), Кинжал (свидетельство селекционера №0005287), томата Лежебока (свидетельство селекционера №0005462) и гибридов капусты белокочанной - Белизар (свидетельство селекционера №0004354), Добрава (свидетельство селекционера №0005292), Катана (свидетельство селекционера №0005522), Завея (справка о прохождении Государственного испытания №01-15/350 от 04.04.2017), внедрение которых будет способствовать повышению валовых сборов урожая, а также замещению аналогичной импортной продукции.

3. Для проведения эффективного отбора перспективных комбинаций скрещивания при селекции на гетерозис рекомендуется применять:

- методические рекомендации по использованию молекулярных маркеров в гетерозисной селекции перца сладкого *Capsicum annuum* L.
- методические рекомендации по подготовке и проведению полимеразной цепной реакции, а также отбору полиморфных пар на основе ПЦР у капусты белокочанной (акт внедрения от 20.12.2007г.).

4. Рекомендуется использовать при планировании селекционного процесса томата и перца сладкого, созданные и включенные в Государственный реестр информационные ресурсы:

- «База данных коллекции перспективных линий томата защищенного грунта, созданных в ГНУ Институт генетики и цитологии НАНБ» (№ 1341403687 от 04.01.2014г.);
- «База данных коллекции перспективных линий, сортов и гибридов перца сладкого» (№1341403710 от 09.01.2014г.).

Представленные в базах данных сведения позволяют проводить направленный отбор исходного материала в соответствии с задачами селекции.

5. Рекомендуется использовать новые сведения о молекулярно-генетических основах гетерозиса, полученные при выполнении исследования, в учебном процессе при подготовке специалистов биологического и сельскохозяйственного профиля. Результаты работы включены в материалы учебных курсов кафедры биотехнологии и биоэкологии Белорусского Государственного технологического университета по дисциплине «Физико-химические методы исследования биополимеров и клеток» для студентов 4 курса специальности Биотехнология (протокол заседания кафедры №4 от 10.11.2005г.) и факультета естествознания Белорусского Государственного педагогического университета им. М.Танка по дисциплине «Генетика» для студенток III, IV курсов по специальностям «Биология и химия», «Биология и география» (протокол заседания кафедры №8 от 18.02.2016г.).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

Главы в коллективных монографиях

1. Анеуплоидия в генетических исследованиях пшеницы / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Дыленок, А. П. Яцевич, Н. В. Анисимова, Е. А. Хомич, Л. В. Хотылева // Генетические основы селекции растений : в 4 т. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии ; науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск, 2008. – Т. 1 : Общая генетика растений, гл. 9. – С. 420–454.

2. Пшеница // Н. А. Картель, Л. В. Хотылева, **М. Н. Шаптуренко**, А. А. Булойчик, Е. А. Волуевич, В. С. Борзяк, С. И. Гриб, И. К. Коптик // Генетические основы селекции растений : в 4 т. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии ; науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск, 2010. – Т. 2 : Частная генетика растений, гл. 1. – С. 8–51.

3. ДНК-маркирование исходного материала овощных культур для селекции гетерозисных гибридов / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, А. В. Якимович, Ю. М. Забара, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Генетические основы селекции растений : в 4 т. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии ; науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск, 2014. – Т. 4 : Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия, гл. 12. – С. 345–366.

Публикации, соответствующие пункту 18 Положения о присуждении ученых степеней и ученых званий в республике Беларусь

4. Потенциал продуктивности перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) по кинетическим показателям термодеструкции семян / **М. Н. Шаптуренко**, Л. М. Шостак, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Доклады НАН Беларуси. – 2007. – Т. 51, № 4. – С. 66–70.

5. Использование RAPD-маркеров для оценки исходного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в селекции на гетерозис / Л. В. Хотылева, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац.

акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2008. – Т. 14. – С. 214–221.

6. Взаимодействие генов, определяющих гетерозис у гибридов F₁ томата защищенного грунта / Л. А. Тарутина, В. Н. Кавцевич, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Весці БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2011. – № 3. – С. 8–12.

7. Эффекты генопипа и его взаимодействия со средой у новых линий томата *Lycopersicon esculentum* / В. Н. Кавцевич, Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Весці БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2012. – № 1. – С.15-18.

8. Подбор исходного материала и создание коллекции линий томата кистевого типа / В. Н. Кавцевич, Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Л. В. Хотылева // Весці БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2012. – № 3. – С. 3-6.

9. Генетические дистанции между линиями перца сладкого (*Capsicum annuum* L.), оцененные с использованием RAPD-маркеров, и их связь с гетерозисом / Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Мишин, Т. В. Печковская, Л. В. Хотылёва // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2012. – Т. 20. – С. 255-265

10. Использование RAPD-маркеров для оптимизации отбора исходного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в селекции на гетерозис / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Т. В. Печковская, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылёва // Вавил. журн. генетики и селекции. – 2013. – Т. 17, № 1. – С. 63–71.

11. Оценка генетической разнородности линий томата на основе технологии ISSR-PCR / В. Н. Кавцевич, **М. Н. Шаптуренко**, С. В. Кубрак, Л. А. Тарутина // Весці БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2013. – № 3. – С. 18–23.

12. Отбор исходного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) при селекции на гетерозис с использованием ДНК маркеров / Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Мишин, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2013. – Т. 21. – С. 272-281.

13. Маркер ассоциированный отбор в селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L. f. *alba* DC.) / **М. Н. Шаптуренко**, А. В. Якимович, Т. В. Печковская, Ю. М. Забара Л. В. Хотылева // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2013. – Т. 21. – С. 323-332.

14. Идентификация молекулярно-генетических факторов, обуславливающих гетерозис в F₁ томата (*Solanum lycopersicum* L.) / Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Мишин, С. В. Кубрак, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2014. – Т. 22. – С. 186-195.

15. Анализ взаимосвязей между признаками плодоносящей кисти томата кистевого типа / В. Н. Кавцевич, Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко**, Н. Д. Лисов // Весці БДПУ. Сер. 3, Фізіка. Матэматыка. Інфарматыка. Біялогія. Геаграфія. – 2014. – № 1. – С. 16–21.

16. DNA divergence as a criterion of a sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) selection for heterosis / **M. N. Shapturenko**, L. A. Tarutina, L. A. Mishin, A. V. Kilchevsky, L. V. Khotyleva // Russian Journal of Genetics. – 2014. – Vol. 50, № 2. – P. 123-130.

17. Вклад молекулярно-генетической дивергенции капусты белокочанной в реализацию продуктивного потенциала гибридов F₁ / **М. Н. Шаптуренко**, А. В. Якимович, Ю. М. Забара, Л. В. Хотылева // Доклады НАН Беларуси. – 2014. – Т. 58, №5. – С. 80–86.

18. Перспективы предсказания генетического потенциала F₁ томата (*Solanum lycopersicum* L.) на основе оценки SSR полиморфизма / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, С. В. Кубрак, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Экологическая генетика. – 2014. – Т. XII, №3. – С. 3–11.

19. Сравнительный анализ аллельного состава микросателлитных локусов *Brassica oleracea* var. *capitata* L. / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Печковская, С. И. Вакула, Л. В. Хотылева // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / Нац. акад. наук України, Ін-т молекулярної біології і генетики. Українське товариство генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. – Київ, 2015. – Т. 16. – С. 170-173.

20. Микросателлитный анализ генетической структуры селекционного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Никитинская, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2015. – Т. 23. – С. 223–231.

21. SNP-анализ генетического разнообразия пшеницы Беларуси / **М. Н. Шаптуренко**, С. В. Вакула, В. А. Корзун, Л. В. Хотылева // Доклады НАН Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 4. – С. 98–103.

22. Связь дифференциального ДНК-полиморфизма томата (*Solanum lycopersicum* L.) с гетеротическим потенциалом гибридов F₁ / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, С. В. Кубрак, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Доклады НАН Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 5. – С. 101-107.

23. Хотылева, Л. В. Теоретические аспекты гетерозиса / Л. В. Хотылева, А. В. Кильчевский, **М. Н. Шаптуренко** // Вавил. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 4. – С. 482-492.

24. **Шаптуренко**, **М. Н.** Гетерозис: современные тенденции в изучении молекулярных механизмов / **М. Н. Шаптуренко**, Л. В. Хотылева // Вавил. журн. генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, №5. – С. 689-700.

25. Полиморфизм микросателлитных последовательностей ДНК томата

(*Solanum lycopersicum* L.) в связи с реализацией генетического потенциала гибридов F₁ / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, С. В. Кубрак, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2016. – Т. 24. – С. 184-192.

26. Informative EST-SSR markers for genotyping and intraspecific differentiation of *Brassica oleracea* var. *capitata* L. / **M. N. Shapturenko**, T. V. Pechkovskaya, S. V. Vakula, A. V. Yakimovitch, Y. M. Zabara., L. V. Khotyleva. // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2017. – Vol. 7, №1. – P. 14-20.

27. Полиморфизм микросателлитных локусов перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) в связи с реализацией гетеротического потенциала гибридов F₁ / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Никитинская, Т. В. Печковская, Л. А. Мишин, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. – 2017. – Т. 23. – С. 15-25.

28. Генетическая дивергенция и ее роль в реализации гетеротического потенциала капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Печковская, А. В. Якимович, Ю. М. Забара, С. И. Вакула, Л. В. Хотылева. // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. – Минск, 2017. – Т. 23. – С. 50-59.

29. Особенности семеноводства гибридов F₁ позднеспелой капусты белокочанной в условиях Беларуси / Ю. М. Забара, А. В. Якимович, В. В. Акулич, Т. В. Печковская, **М. Н. Шаптуренко** // Овощеводство : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т овощеводства. – Минск, 2017. – Т. 25. – С. 28–36.

Рецензируемые статьи

30. Запасные компоненты семян в формировании продуктивности перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, И. Лайковская, Л. В. Хотылева // Овощеводство и багтанніцтва. – 2005. – Вып. 51. – С. 355-367.

31. Анеуплоидия в селекции пшеницы / **М. Н. Шаптуренко**, А. П. Яцевич, Л. А. Дыленок, Н. В. Анисимова, Л. И. Куделко, Л. В. Хотылева // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. – Минск, 2007. – Т. 5. – С. 92-102.

32. Роль жирных кислот в формировании продуктивности перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, И. В. Лайковская, Л. В. Хотылева // Труды БГТУ. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2007. – Вып. XV. – С. 188-190.

33. ДНК-гетерогенность коллекции капусты белокочанной (*Brassica oleraceae* L.) на основе RAPD- маркеров / **М. Н. Шаптуренко**, А. В. Якимович, Т. В. Печковская, В. Н. Леонтьев, Л. В. Хотылева // Труды БГТУ. Сер. IV. Химия и технология органических веществ. – 2008. – Вып. XVI. – С. 199-201.

34. Гетерозис в селекции сельскохозяйственных растений / А. В. Кильчевский, Л.

В. Хотылева, Л. А. Тарутина, **М. Н. Шаптуренко** // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т генетики и цитологии. – Минск, 2008. – Т.8. – С. 7-24.

35. Assessing genetic variation by thermogravimetric analysis to predict heterosis of sweet pepper lines / **M. Shapturenko**, L. Tarutina, L. Mishin, L. Shostak, L. Khotyleva // Advances in Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant / ed. J. Prohens and A. Rodrigues-Burruezo. – Valencia, 2010. – P. 339-347.

36. Hybrid performance in sweet pepper relative to parental diversity detected by RAPD and ISSR markers / **M. Shapturenko**, L. Tarutina, T. Pechkovskaya, L. Mishin, A. Kilchevsky, L. Khotyleva // Breakthroughs in the Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant / ed. S. Lanteri, G. Rotino. – Torino, 2013. – P. 549-553.

Статьи в материалах конференций

37. Оценка генетического разнообразия коллекции перца сладкого (*Capsicum annuum L.*) / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, И. Б. Капуста, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур : материалы междунар. симпозиума, посвящ. 85-летию ВНИИССОК, Москва, 9-12 авг. 2005 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции и семеноводства овощ. культур ; редкол.: В.Ф. Пивоваров [и др.]. – Москва, 2005. – Т.П. – С. 350-352.

38. **Шаптуренко, М.Н.** Сопряженность эффекта гетерозиса у пшеницы с уровнем генетической гетерогенности родительских форм / **М. Н. Шаптуренко**, Л. В. Хотылева // Materialele Congresului VIII al Societății Științifice a Geneticienilor și Amelioratorilor din Republica Moldova, Chishinau, 29-30 Sept. 2005. / Institutul de Genetică de ASM. – Chishinau, 2005. – P. 225-230.

39. Морфобиологическая и биохимическая характеристики сортового разнообразия перца сладкого (*Capsicum annuum L.*) / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, И. Б. Капуста, И. В. Лайковская, В. В. Титок, Л. В. Хотылева // Materialele Congresului VIII al Societății Științifice a Geneticienilor și Amelioratorilor din Republica Moldova, Chishinau, 29-30 Sept. 2005. / Institutul de Genetică de ASM. – Chishinau, 2005. – P. 391-396.

40. **Шаптуренко, М. Н.** Оценка потенциала продуктивности дисомных линий из потомства анеуплоидов мягкой пшеницы Опал / **М. Н. Шаптуренко**, Н. В. Анисимова, Л. В. Хотылева // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : збірник наукових праць міжнар. наук. конф., присв. 120-літтю від дня народж. М. І. Вавилова и 40-літтю від часу заснування Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, Київ, 21-24 сентября 2007 г. / Українське товариство генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. – Київ : Логос, 2007. – Т. 2. – С. 415-420.

41. Молекулярно-генетическая и морфобиологическая оценка гетерогенности капусты белокочанной / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Печковская А. В. Якимович, Ю.

М. Забара, Л. В. Хотылева // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы : материалы I междунар. науч.-практич. конф., Москва, 4-6 августа 2008 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции и семеноводства овощ. культур. – Москва, 2008. – Т. 2. – С. 381-395.

42. Оценка исходного селекционного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) на основе RAPD-маркеров / М. Н. Шаптуренко, Л. А. Тарутина Л. А. Мишин Л. В. Хотылева // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы : материалы I междунар. науч.-практич. конф., Москва, 4-6 августа 2008 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т селекции и семеноводства овощ. культур, Москва, – Москва, 2008. – Т. 2. – С. 396-399.

43. Молекулярные маркеры в исследовании гетерогенности и чистоты селекционного материала капусты белокочанной / М. Н. Шаптуренко, Т. В. Печковская, А. В. Якимович, Ю. М. Забара, Л. В. Хотылева // Теоретические основы применения биотехнологии, генетики и физиологии растений в современной селекции растений и растениеводстве : материалы междунар. науч.-практич. конф. мол. уч-х., Брянск, 29 июня - 8 июля 2009 г. / Брянский государственный университет. – Брянск, 2009. – С. 109-112.

44. Изучение генетического разнообразия коллекции *Brassica oleraceae* L. var. *capitata* L. F. *alba* DC / Т. В. Печковская, М. Н. Шаптуренко, А. В. Якимович, Ю. М. Забара, Л. В. Хотылева // Актуальные проблемы изучения и сохранения фито- и микобиоты : II междунар. науч.-практич. конф., Минск, 12-14 ноября 2013 г. : сборник статей / Белорусский государственный университет. – Минск, 2013. – С. 431-433.

45. Роль полиморфизма анонимных последовательностей ДНК в реализации продуктивного потенциала диаллельных гибридов F₁ капусты белокочанной / М. Н. Шаптуренко, А. В. Якимович, Т. В. Печковская, Ю. М. Забара, Л. В. Хотылева // Современное состояние и перспективы инновационного развития овощеводства : материалы междунар. науч.-практич. конф., Самохваловичи, 8-11 июля 2014 г. / Ин-т овощеводства НАН Беларуси. – Самохваловичи, 2014. – С. 81-83.

46. Результаты испытания гибридов капусты белокочанной отечественной селекции в странах ЕС / А. В. Якимович, Ю. М. Забара, А. Р. Аксеньюк, М. Н. Шаптуренко // Современное состояние и перспективы инновационного развития овощеводства : материалы междунар. науч.-практич. конф., Самохваловичи, 8-11 июля 2014г. / Ин-т овощеводства НАН Беларуси. – Самохваловичи, 2014. – С. 87-89.

47. Генетические ресурсы пшеницы в Беларуси / М. Н. Шаптуренко, В. Н. Корзун, С. В. Вакула, Л. В. Хотылева // Биотехнологические приемы в сохранении биоразнообразия и селекции растений : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 18-20 августа 2014 г. / Центральный ботанический сад НАН Беларуси. – Минск, 2014. – С. 261-263.

48. Genetic diversity of hexaploid wheat in Belarus based on SNP genotyping /

M. Shapturenko, V. Korzun, S. Vakula, L. Khotyleva // 16th Int. EWAC conf. : proceedings, Lublin, 24-29 may 2015 / Leibniz-Inst. für pflanzengenetik und kulturpflanzenforschung, Gatersleben, Germany. Inst. of plant Genetics, breeding and biotechnology, University of life science; ed.: A. Borner and K. Kowalczyk. – Lublin, 2016. – P. 43-48.

Тезисы докладов

49. Genetic collection of agricultural plants / L. Khotyleva, **M. Shapturenko**, A. Yatsevich, L. Kaminskaya, L. Koren, O. Orlovskaya, V. Lemesh, L. Polonetskaya, V. Titok, L. Tarutina // IV Baltic Genetical Congress, Daugavpils, 9-12 October 2007 : abstracts / Daugavpils University. – Daugavpils, 2007. – P. 170.

50. Оценка молекулярно-генетической гетерогенности капусты (*Brassica oleracea* L.) на основе RAPD PCR / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Печковская, А. В. Якимович, Л. В. Хотылева // Генетика и селекция растений, основанная на современных генетических знаниях и технологиях : междунар. науч. школа-конф. молодых ученых, Звенигород, 7-12 декабря 2008г. : тез. докл. / Ин-т общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН. – Звенигород, 2008. – С. 74.

51. Идентификация ДНК-гетерогенности перца сладкого при селекции на гетерозис / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, Л. В. Хотылева // Генетика и селекция растений, основанная на современных генетических знаниях и технологиях : междунар. науч. школа-конф. молодых ученых, Звенигород, 7-12 декабря 2008 г. : тез. докл. / Ин-т общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН. – Звенигород, 2008. – С. 75.

52. Оценка генетической гетерогенности овощных культур при селекции на гетерозис / **М. Н. Шаптуренко**, А. В. Якимович, Л. А. Тарутина, Л. В. Хотылева // V Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, Москва, 21-28 июня 2009г. : тезисы докладов / Московский государственный университет. – Москва, 2009. – С. 365.

53. **Shapturenko, M.** Formation of genetic variability at spring wheat opal disomic lines / **M. Shapturenko**, L. Khotyleva // 8th international wheat conference, St.Petersburg, 1-4 June 2010 : abstracts of oral and poster presentation / N. I. Vavilov Research Institute of Plant Industry. – St. Petersburg, 2010. – P. 472.

54. Estimates of parental diversity for predicting heterosis in vegetable plants / **M. Shapturenko**, A. Yakimovich, T. Jalbot, L. Tarutina, L. Mishin, L. Khotyleva // Plant genetics, genomics, and biotechnology : International conference, Novosibirsk, 7-10 June 2010 : abstract book. / Inst. Cyt. and Genet. SB RAS. – Novosibirsk, 2010. – P. 78.

55. Genetic and phenotypic correlations between productivity components of sweet pepper / L. Khotyleva, L. Tarutina, L. Mishin, **M. Shapturenko** // Advances in genetics and breeding of capsicum and eggplant : XIVth EUCARPIA Meeting, Valencia, 30 August-1 September 2010 : abstracts / Universitat politècnica de València ; ed.: J. Prohens, A. Rodríguez-Burruezo. – Valencia, 2010. – P. 337.

56. **Shapturenko, M.** Molecular heterogeneity and genetic potential of wheat Opal disomic lines / M. Shapturenko, L. Khotyleva // 20th International triticeae mapping initiative and 2nd Wheat genomics in China, Beijing, 1-5 September 2010 : proceedings / Chinese Academy of agricultural science. – Beijing, 2010. – P. 197.

57. Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in white cabbage / **M. N. Shapturenko**, T. V. Pechkovskaya, A. V. Yakimovich, Y. M. Zabara, L. V. Khotyleva // Plant Genetics, Genomics, and Biotechnology: 2nd International Conference PlantGen 2012, Irkutsk, 30 July–03 August 2012 : proceedings / Siberian branch of Russian academy of sciences. – Irkutsk, 2012. – P. 62.

58. Оценка дивергенции селекционного материала перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) с использованием ISSR-маркеров / **М. Н. Шаптуренко**, Т. В. Никитинская, С. В. Кубрак, Л. А. Тарутина, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : Междунар. науч. конф., посв. 100-летию со дня рождения академика Н. В. Турбина, Минск, 8-11 октября 2012 г. : материалы конф. / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.] – Минск, 2012. – С. 114.

59. ISSR evaluation of sweet pepper accessions for selection / A. V. Kilchevsky, **M. N. Shapturenko**, L. A. Tarutina, T. V. Nikitinskaya, L. V. Khotyleva // Breakthroughs in the Genetics and Breedings of Capsium and Eggplant : XV EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum and Eggplant, Torino, 2-4 September 2013 : proceedings; ed.: S. Lanteri, G. L. Rotino. – Torino, 2013. – P. 513.

60. SSR-маркеры для идентификации и паспортизации селекционных образцов перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / Т. В. Никитинская, **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Новейшие достижения биотехнологии : I междунар. науч.-практич. конф., Киев, 24-25 октября 2013 г. : тез. докл. / Институт клеточной биологии и генетической инженерии АН Украины. – Киев, 2013. – С. 105-106.

61. Маркер-ассоциированный отбор в селекции капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L. var. capitata L. f. alba DC. / Т. В. Печковская, С. И. Вакула, А. В. Якимович, **М. Н. Шаптуренко**, Ю. М. Забара, Л. В. Хотылёва // VI Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, Ростов-на-Дону, 15-20 июня 2014 г. : тез. докл. / Вавиловское общество генетиков и селекционеров. – Ростов-на-Дону, 2014. – С. 161.

62. Роль ДНК-дивергенции в реализации продуктивного потенциала F₁ перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // VI Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, Ростов-на-Дону, 15-20 июня 2014 г. : тез. докл. / Вавиловское общество генетиков и селекционеров. – Ростов-на-Дону, 2014. – С. 166.

63. Genetic diversity of hexaploid wheat in Belarus based on SNP genotyping / **M. Shapturenko**, V. Korzun, S. Vakula, L. Khotyleva // EWAC 2015 international

conference, Lublin, 24-29 May 2015 : book of abstracts ; ed.: A. Borner and K. Kowalczyk. – Lublin, 2015. – P. 10.

64. SNP-characterization of Genetic Structure and Diversity in Belarusian Wheat (*Triticum aestivum* L.) / **M. Shapturenko**, V. Korzun, S. Vakula, L. Khotyleva // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology : 3rd International conference, Novosibirsk, 17-21 June 2015 : abstract book / Inst. Cytology and Genetics of SB RAS ; ed.: V. K. Shumny [et al.]. – Novosibirsk, 2015. – P. 50.

65. Pattern of cytosin methylation in sweet pepper hybrids and its parental lines / S. Vakula, **M. Shapturenko**, L. Tarutina, L. Mishin, L. Khotyleva // Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics and Biotechnology : 3rd international conference, Novosibirsk, 17-21 June 2015 : abstract book / Inst. Cytology and Genetics SB RAS ; ed.: V. K. Shumny [et al.]. – Novosibirsk, 2015. – P. 60-61.

66. Вклад дифференциального ДНК-полиморфизма томата (*Solanum lycopersicum* L.) в реализацию генетического потенциала гибридов F₁ / **М. Н. Шаптуренко**, Л. А. Тарутина, Л. А. Мишин, С. В. Кубрак, А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Перспективы научного обеспечения овощеводства : междунар. науч.-практич. конф., Самохваловичи, 21-24 июля 2016 г. : тез. докл. / Ин-т овощеводства НАН Беларуси. – Самохваловичи, 2016. – С. 53-54.

67. Impact of differential DNA polymorphism of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) into F₁ hybrids performance / **M. N. Shapturenko**, L. A. Tarutina, L. A. Mishin, A.V. Kilchevsky, L.V. Khotyleva // Plant genetics and genomics for food security : the 1st International workshop, Novosibirsk, 26-28 August 2016 : proceedings / Inst. Cytology and Genetics SB RAS. – Novosibirsk, 2015. – P. 51.

68. **Shapturenko, M. N.** Molecular-genetic divergence as a criterion for the selection promising cross-combinations in crop. / **M. N. Shapturenko**, L.V. Khotyleva // Plant Genetics and Genomics for Food Security : the 1st International workshop, Novosibirsk, 26-28 August 2016 : proceedings / Inst. Cytology and Genetics SB RAS. – Novosibirsk, 2016. – P.52

69. MSAP- анализ дифференциального метилирования ДНК линий и гибридов F₁ перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) / **М. Шаптуренко**, С. Вакула, Л. Тарутина, Л. Мишин, Л. Хотылева // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : II междунар. науч. конф., Минск, 13-16 октября 2016 г. : материалы конф. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.] – Минск, 2016. – С. 133.

70. Differential SNP polymorphism of hexaploid wheat in relation F₁ heterotic response / **M. Shapturenko**, V. Korzun, S. Vakula, L. Khotyleva // 13th international wheat genetic symposium, Tulln, 23-28 April 2017 : proceedings / University of Natural Resources and Life Sciences ; ed.: H. Buerstmayr. – Tulln, 2017. – P. 152.

РЭЗІЮМЕ

Шаптурэнка Марына Мікалаеўна

Генетычная дывергенцыя і гетэрозіс у раслін

Ключавыя словы: генетычная дывергенцыя, дыферэнцыяльны ДНК-палімарфізм, камбінацыйная здольнасць, гетэрозіс.

Мэта даследавання: вывучэнне малекулярна-генетычных асноў гетэрозісу ў F_1 ; распрацоўка алгарытму адбору зыходнага матэрыялу з высокім генетычным патэнцыялам для селекцыі.

Метады даследавання: комплекс фізіка-хімічных, біяхімічных, малекулярна-генетычных падыходаў.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Выканан комплексны аналіз перспектывы выкарыстання розных крытэрыяў ацэнкі генетычнай дывергенцыі зыходнага матэрыялу для аптымізацыі адбору ў селекцыі раслін на гетэрозіс. Паказана, што аналіз структуры генафонду базавых селекцыйных калекцый з ацэнкай генетычных сувязяў у складзе з класічным генетычным аналізам па фенатыпу, забяспечваюць аптымальны падбор кампанентаў гібрыдызацыі для сістэмных скрыжаванняў. Гетэратычны патэнцыял гібрыдаў F_1 ў значнай ступені дэтэрмінаваны палімарфізмам геномаў зыходных бацькоўскіх форм, што дазваляе выкарыстоўваць ацэнку генетычнай дывергенцыі і дыферэнцыяльнага палімарфізму ДНК у якасці крытэрыяў адбору гетэратычных груп. Атрыманы вынікі, якія сведчаць аб тым, што гібрыдызацыя абумоўлівае ўзнікненне эпигенетычных мадыфікацый гібрыднага геному, якія звязаны як з мецэліраваннем, так і зняццем яго эфекту на розных этапах антагенезу. Прадэманстравана магчымасць выкарыстання збалансаванага патомства анеуплоідаў у селекцыі пшаніцы на гетэрозіс, як крыніцы новай генетычнай гетэрагеннасці, абумоўленай праходжаннем генома раслін праз анеуплоідны стан.

На аснове даследавання распрацаваны алгарытм аптымізацыі селекцыйнага працэсу, які базуецца на выкарыстанні метадаў малекулярнага аналізу для ацэнкі разнастайнасці зыходнага селекцыйнага матэрыялу і адбору дывергентных пар скрыжавання.

Рэкамендацыі па выкарыстанні. Атрыманыя вынікі з'яўляюцца тэарэтычнай асновай для эфектыўнага кіравання генетычнай разнастайнасцю і аптымізацыі адбору перспектывнага зыходнага матэрыялу ў селекцыі раслін на гетэрозіс.

Укараненне створаных пры выкананні даследаванняў сартоў і гібрыдаў будзе спрыяць павышэнню валавых збораў ураджаю ў раслінаводстве, а таксама замяшчэнню адпаведнай імпартнай прадукцыі.

Вобласць выкарыстання: генетыка, селекцыя, адукацыя.

РЕЗЮМЕ**Шаптуренко Марина Николаевна****Генетическая дивергенция и гетерозис у растений**

Ключевые слова: генетическая дивергенция, дифференциальный ДНК-полиморфизм, комбинационная способность, гетерозис.

Цель исследования: изучение молекулярно-генетических механизмов, обуславливающих гетерозис в F_1 ; разработка стратегии отбора исходного материала с высоким генетическим потенциалом для селекции.

Методы исследования: комплекс физико-химических, биохимических, молекулярно-генетических подходов.

Полученные результаты и их новизна. Выполнен комплексный анализ перспектив использования различных критериев оценки генетической дивергенции исходного материала для оптимизации отбора в селекции растений на гетерозис. Показано, что анализ структуры генофонда базовых селекционных коллекций с сопутствующей оценкой генетических связей наряду с классическим генетическим анализом по фенотипу обеспечивает оптимальный подбор компонентов гибридизации для системных скрещиваний. Гетеротический потенциал гибридов F_1 в значительной степени детерминирован полиморфизмом геномов исходных родительских форм, что позволяет использовать оценку генетической дивергенции и дифференциального полиморфизма ДНК в качестве критериев отбора гетеротических групп. Получены результаты, которые свидетельствуют о том, что гибридизация обуславливает возникновение эпигенетических модификаций гибридного генома, которые связаны как с метилированием, так и снятием его эффекта на различных этапах онтогенеза. Продемонстрирована возможность эффективного использования сбалансированного потомства анеуплоидов в селекции пшеницы на гетерозис, как источник новой генетической гетерогенности, обусловленной прохождением растений через анеуплоидное состояние. На основе полученных результатов разработан алгоритм оптимизации селекционного процесса, базирующийся на использовании методов молекулярного анализа для оценки разнообразия исходного селекционного материала и отбора дивергентных пар скрещивания.

Рекомендации по использованию. Полученные результаты являются теоретической основой для эффективного управления генетическим разнообразием и оптимизации отбора перспективного исходного материала в селекции растений на гетерозис.

Внедрение созданных при выполнении исследований сортов и гибридов будет способствовать повышению валовых сборов урожая в растениеводстве, а также замещению соответствующей импортной продукции.

Область применения: генетика, селекция, образование.

SUMMARY

Shapturenko Marina

Genetic divergence and heterosis in plant

Keywords: genetic divergence, differential DNA polymorphism, combining ability, heterosis.

Aim of the study: research of molecular-genetic mechanisms causing heterosis in F₁; development effective strategy of selection the potentially heterotic cross-combinations for breeding.

Methods of research: the complex of physicochemical, biochemical, molecular-genetic and statistical approaches.

Results and their novelty. Comprehensive analysis of the predictive potential of the various criteria for assessing genetic divergence of initial gene pool in order to optimize selection in plant breeding for heterosis was performed. It is shown, that analysis of gene pool structures the core breeding collections along both the evaluation of genetic relationships and phenotyping, provide an optimal selection the cross-hybridization components for mating design. The heterotic potential of F₁ hybrids is largely determined by the genomes polymorphism of parental forms, which makes it possible to use the evaluation of genetic divergence and differential polymorphism DNA as a tool for selection in breeding for heterosis. The obtained results indicate that hybridization causes the emergence of epigenetic modifications the hybrid genome, which are associated with both methylation and demethylation in dependence of ontogenesis stage. The possibility of an effective use the balanced wheat aneuploid offspring in heterotic breeding as a source of new genetic heterogeneity due to the passage of plants through the aneuploid state is demonstrated. The algorithm of optimizing the breeding process based on using the molecular analysis methods to assess the genetic background of core breeding collections and selection the divergent cross-combinations was developed.

Recommendations for application. The obtained results are the theoretical basis for effective management the genetic resources and allow to optimize the selection of prospective initial accessions in plant breeding for heterosis.

The introduction into agricultural production the varieties and hybrids created throughout this research will contribute to increasing the crop yields, as well as the replacement of relevant imported genetic stocks.

Field of application: genetic, plant breeding, education.