

## Лекція 6.

**Тема:** Використання гетерозису в селекції та насінництві рослин

### План

1. *Суть і значення гетерозису.*
2. *Методи отримання інцухт-ліній.*
3. *Визначення загальної та специфічної комбінаційної здатності.*
4. *Типи гібридів кукурудзи.*
5. *Значення цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції на гетерозис.*

### **1. Суть і значення гетерозису.**

Серед біологічних явищ, використання яких у сільськогосподарських рослин дає можливість значною мірою в найкоротші строки підвищити урожайність слід виділити **явище гетерозису**.

Перші теоретичні розробки явища гібридної сили на основі положень менделівської генетики припадають на 1904-1912 роки, і відомі як гіпотези домінування і наддомінування.

Особливий внесок у генетичні дослідження і розроблення сучасних методів використання явища гібридної сили зробили американські вчені Дж. Шелл, Е. Іст, Д. Джонсон. У 1914 р. Дж. Шелл запропонував називати підвищену силу гібридів терміном «гетерозигозис», а потім «гетерозис». Цей термін з 1917 р. став загальновизнаним. Підвищення сили розвитку, життєздатності і продуктивності гібридів першого покоління порівняно із батьківськими формами називають **гетерозисом**.

Не кожне схрещування супроводжується проявом у потомства гібридної сили. Лише певні пари батьківських форм

дають гетерозисне потомство. Найчастіше гетерозис проявляється при схрещуванні географічно і генетично віддалених форм.

Повною мірою гетерозис проявляється лише у першому поколінні (F1), а в наступних – гібридна сила організмів різко знижується, тобто гетерозис при насінневому розмноженні не закріплюється.

Підвищення продуктивності рослин за рахунок ефекту гетерозису може поєднуватися з іншими цінними ознаками, наприклад з підвищеною стійкістю до хвороб, прискореним розвитком і раннім дозріванням, з поліпшенням якості продукції тощо. За наведеними ознаками гетерозис може виявлятися й незалежно, тобто може мати дискретний характер.

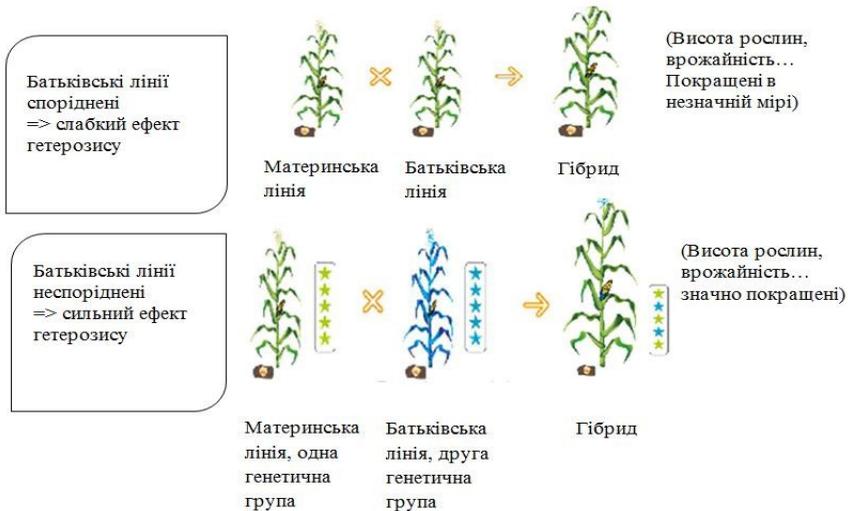
У нас час явище гетерозису широко використовують у селекції кукурудзи, сорго, соняшника, томатів, гарбузів, огірків, кавунів, цибулі, капусти, буряків цукрових, декоративних рослин та ін. культур.

Останнім часом його почали використовувати і в селекції рису, пшениці, бавовнику та різних видів пальм.

Створення і впровадження у виробництво гібридів кукурудзи дозволило підвищити на 20-30 % валові збори зерна на величезних площах, зайнятих цією культурою у різних країнах світу.

Створені гібриди кукурудзи поєднують високу врожайність (до 20 т/га) із високою якістю насіння, посухостійкістю та стійкістю до хвороб.

Ряд провідних компаній світу, в тому числі Євраліс Семенс Україна, застосовують явище гетерозису у своїх наукових розробках при створенні сучасних гібридів кукурудзи (Рис. 1)



**Рис. 1** Гетерозис – основна мета селекції Євраліс Семенс Україна.

Проте, в Україні лише гібриди кукурудзи і огірків майже повністю витіснили сорти із виробництва. Подібна тенденція також намітилася із цукровими буряками та соняшником. Щодо більшості овочевих культур, то гетерозисні гібриди поки, що не знайшли великого поширення в Україні .

Залежно від ознак, за якими виявляється гетерозис, шведський генетик А. Густафсон запропонував розрізнати три головних його типи: соматичний, репродуктивний і адаптивний.

**Соматичний гетерозис** виявляється в сильнішому розвитку вегетативних органів у гібридів порівняно з батьківськими формами.

**Репродуктивний гетерозис** характеризується кращим розвитком репродуктивних органів, підвищеною фертильністю і вищою врожайністю плодів і насіння .

**Адаптивний гетерозис** виявляється в підвищеній життєздатності гібридів, їх кращій пристосованості і стійкості



домінантних гена)

AABBCCDD

Теоретично можна досить легко створити інбредні лінії з накопиченими в їхніх групах зчеплення домінантними генами, але результати досліджень показали, що в таких лініях гетерозис аж ніяк не проявляється. Тобто, за своєю біологічною активністю домінантні гомозиготи, не прирівнюються до гетерозигот. Це й спонукало вчених переглянути цю теорію.

Гіпотеза зверхдомінування пояснює гібридну силу перевагами гетерозигот перед гомозиготами по одному або багатьох генах. За уявленнями Д. Шелла (1911), Е. Іста (1936) та інших дослідників для пояснення механізмів гетерозису була створена теорія гетерозиготності (наддомінування). Згідно із цією гіпотезою надвисока гібридна сила у гібридних нащадків обумовлюється перевагами гетерозиготного стану генів над гомозиготним:

$(AA < Aa > aa)$  – гіпотеза **наддомінування**

AA 2Aa aa – розчеплення;

Формула, яка характеризує явище гетерозису:  $HF1 = \sum dy^2$  – де гетерозис є добуток домінантного ефекту (d) значної кількості генів, але в більшій мірі це добуток квадрата різниці ( $y^2$ ) за частотою генів між схрещуваними лініями. Така різниця має найбільше значення в тому випадку, коли лінії зовсім гомозиготні (І 6). Гомозиготна лінія дає лише один тип гамет, а схрещування різних ліній – найбільш сприятливу комбінацію таких гамет або генів (Рис. 2)

Сорт А х сорт В  
AbCDeFGiJ і т.д. ABCdEFGIJ і  
т.д.

F1 AABbCCDdEeFFGGIiJj і т.д

### **Сортовий гетерозис**

Лінія 1 від сорта А х Лінія 15 від сорта В  
ABcDeFgij і т.д. abCdEfgIJ і т.д.

F1 AaBbCcDdEeFfggIiJj і т.д.

### **Лінійний гетерозис**

Рис. 3 Відмінності сортового і лінійного гетерозису за станом алельних генів

Залежність кількісного вираження ознаки від кількості гетерозиготних локусів показано на (Рис. 3), вказує на підтвердження дії гіпотези верх- домінування.

**Гіпотеза інбредної депресії.** Ця гіпотеза стверджує, що самі по собі локуси нейтральні. Вони являються тільки маркерами гетерозиготності генома (Mitton, Piers, 1980, Chakraborty, 1981). Чим нижче гетерозиготність маркерів, тем вище гомозиготність геному і інбридність особин; тобто, відповідно, в цьому стані є багато шкідливих генів. Принципове значення тут відіграють співвідношення домінантності – рецесивності

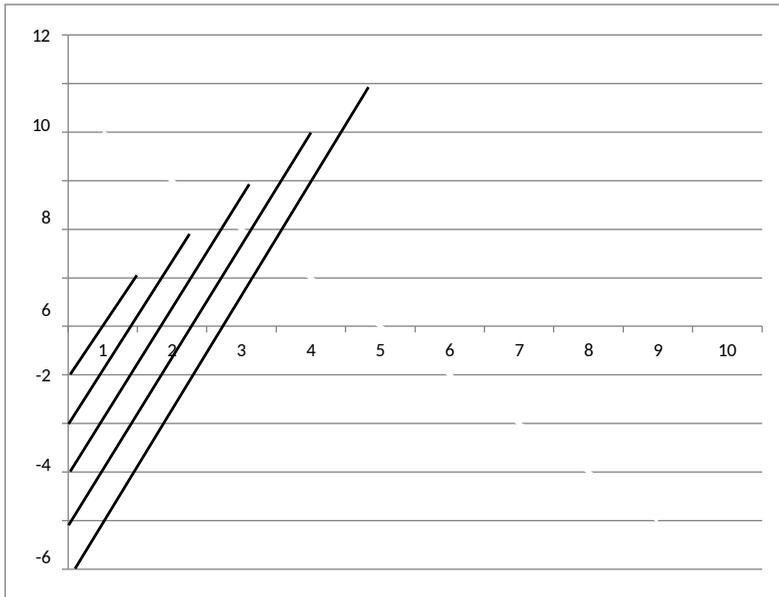


Рис.4. Залежність середнього значення кількісної ознаки (КО) від кількості гетерозиготних локусів: наддомінування.

По вісі X - Но, кількість гетерозиготних локусів у особин. По вісі Y - Y-у, а у – значення КО у окремих особин.

**Теорія генетичного балансу** – пояснює перевищення значень господарсько-цінних ознак у гібридів порівняно з кращою із батьківських форм (істинний гетерозис) ефектом сумарної взаємодоповнювальної дії адитивних і неадитивних генних комплексів. Отже, складовими теорії генетичного балансу є: 1) взаємодія алелів в межах локусу Аа, що пояснює гіпотеза наддомінування; 2) взаємодія між алелями різних локусів типу АаВвСс, які лежать в основі гіпотези сприятливої дії домінантних факторів; 3) міжалельні (міжлокусні) взаємодії, що доповнюють ефект гетерозиготності за окремими генами (комплементарний ефект) або пригнічують ці ефекти при різних взаємодіях

генів (епістаз) .

## 2. Методи отримання інцухт-ліній.

Примусове запилення перехреснозапильної рослини власним пилком називається *інцухтом*.

Зниження продуктивності і життєздатності організмів унаслідок примусового самозапилення у перехреснозапильних рослин називається **інцухт-депресією** або інбредним виродженням.

Інцихт-депресія особливо сильно виявляється в перших поколіннях після інцухту. Після *n*-інцухт-поколінь настає так званий **інцухт-мінімум**, тобто стан інбредного потомства, коли інцухт-депресія досягає свого найбільшого виявлення і подальшого зниження життєздатності рослин при інцухтуванні не відбувається. Аналогічне пояснення інцухт-мінімуму стосується окремих ознак: розмірів рослин, їхніх органів, стійкості до хвороб, кількості зерен тощо [1, 2].

Кількість поколінь самозапилення для досягнення інцухт-мінімуму за різними полігенними ознаками може значно відрізнятись (Рис. 5)

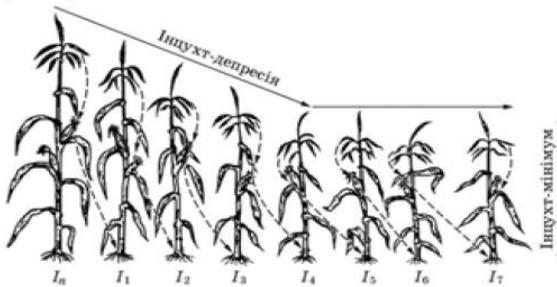


Рис. 5 Схема одержання інцухт-ліній у кукурудзи .

Сильне виявлення депресії в перших поколіннях Е. Іст пояснював переходом напівлетальних рецесивних генів у гомозиготний стан. Подальше зниження інцухт-депресії в

наступних поколіннях зумовлено тим, що більшість рецесивних напівлетальних генів уже перейшла в гомозиготний стан. Отже, інбридинг сприяє підвищенню гомозиготності (Рис.6) [2].

<b>Геноти пи</b>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20
<b>AA</b>	1	3	7	15	31	63	127	355	511	1023	1047000
<b>Aa</b>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<b>aa</b>	1	3	7	15	31	63	127	355	511	1023	1047000
<b>%</b>											
<b>гетероз и-</b>											
<b>готних особин</b>	50	25	12,5	6,2	3,2	1,6	0,8	0,4	0,2	0,1	0,00009

Рис.6 Зміна чисельності і відсоткове співвідношення різних генотипів у потомстві однієї гетерозиготної особини при повному самозапиленні.

Головним для виробництва у відкритті Дж. Шелла та Е. Іста було не вивчення явища інцухту, а те, що схрещування інцухт-ліній дає високопродуктивне потомство. Гібриди, виведені від схрещування інцухт- ліній, перевищують не тільки батьківські лінії, а й вихідні сорти. Створення самозапиленних ліній, здійснюється згідно вимог до нових гібридів. Самозапилені лінії повинні мати високу насінневу продуктивність, комбінаційну здатність, стійкість до вилягання, знижених температур, хвороб і шкідників, які визначені селекційною програмою.

*Методи створення самозапиленних ліній:* стандартний метод, гніздовий метод, метод кумулятивної селекції, метод

педігрі або за родоводом, метод гаплоїдії, метод індукованого мутагенезу.

*Стандартний метод.* Більшість наявних нині гібридів створено за участю ліній, які виведено стандартним методом. Цей метод найпоширеніший. Він полягає в регулярному (до І4-І6) самозапиленні вихідного матеріалу і доборі рослин та качанів з бажаними ознаками.

*Гніздовий метод* полягає в тому, що вже на другий рік насіння з качанів, одержаних у результаті самозапилення, висівають по 3-4 штуки в одне гніздо. В гнізді самозапилюються тільки найкращі рослини.

Метод особливо ефективний при випробуванні ліній уже з першого інцухт-покоління (І1). При цьому рослини І1 схрещують з іншими відповідними компонентами, які вирощують по сусідству в кожному гнізді. У цьому разі частину пилку інцухт-потомства використовують для самозапилення власного качана, а частину – для запилення рослини-аналізатора. У наступному році гібрид (аналізатор х інцухт-потомство) вивчають у попередньому випробуванні висіваючи по одному гнізду в 8-10- кратній повторності .

*Метод кумулятивної селекції* передбачає створення самозапилених ліній стандартним методом і повторення циклу самозапилення і схрещування виділених у першому циклі (стандартним методом) кращих ліній.

*Метод педігрі, або добір за родоводом* подібний до кумулятивного добору. Цей метод виведення самозапилених ліній відрізняється від стандартного тільки спрямованим відбором вихідного матеріалу. При цьому вихідним матеріалом буде F2 гібрида між раніше відібраними лініями. В цього гібрида може бути створена лінія (стійка до вилягання, висока комбінаційна здатність тощо), ніж обидві попередні лінії.

Метод гаплідії полягає у виведенні та ідентифікації рослин з одинарним (гаплідним) набором хромосом наступне подвоєння яких дає найвищий ступінь гомозиготності. Визначення загальної та специфічної комбінаційної здатності.

Загальна комбінаційна здатність відображає середню величину ефекту гетерозису, що спостерігається при схрещуванні лінії, яка випробовується, з іншими.

Специфічна комбінаційна здатність виражається величиною ефекту гетерозису в тому чи іншому конкретному схрещуванні.

Комбінаційну здатність ліній і сортів у селекції на гетерозис вивчають методами **діалельних схрещувань, топкросу, полікросу та вільного запилення.**

*Метод діалельних схрещувань* передбачає попарні схрещування кожної випробовуваної на комбінаційну здатність лінії або сорту між собою (Табл. 1) і дає найповнішу інформацію про загальну і специфічну комбінаційну здатність селекційного матеріалу. Визначення комбінаційної здатності ліній є важливою ланкою в селекційному процесі на гетерозис.

Таблиця 1

### Повна схема діалельних схрещувань

Материнські лінії	Чоловічі лінії									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	-	1x2	1x3	1x4	1x5	1x6	1x7	1x8	1x9	1x10
2	2x1	-	2x3	2x4	2x5	2x6	2x7	2x8	2x9	2x10
3	3x1	3x2	-	3x4	3x5	3x6	3x7	3x8	3x9	3x10
4	4x1	4x2	4x3	-	4x5	4x6	4x7	4x8	4x9	4x10
5	5x1	5x2	5x3	5x4	-	5x6	5x7	5x8	5x9	5x10
6	6x1	6x2	6x3	6x4	6x5	-	6x7	6x8	6x9	6x10
7	7x1	7x2	7x3	7x4	7x5	7x6	-	7x8	7x9	7x10
8	8x1	8x2	8x3	8x4	8x5	8x6	8x7	-	8x9	8x10

9	9x1	9x2	9x3	9x4	9x5	9x6	9x7	9x8	-	9x10
10	10x1	10x2	10x3	10x4	10x5	10x6	10x7	10x8	10x9	-

Оцінити її візуально за допомогою приладів або хімічних реакцій досі неможливо. Для визначення комбінаційної здатності ліній існує поки що єдиний спосіб – схрещування з наступною оцінкою гібридного потомства. Існує кілька методів оцінки комбінаційної здатності ліній: діалельні схрещування, топкрос і полікрос .

Можливу кількість діалельних реципрокних схрещувань визначають за формулою:  $F1 = n(n - 1)$ .

Якщо вивчають комбінаційну здатність форм у прямих схрещуваннях (крім реципрокних), то можливу їх кількість визначають за формулою:

$F1 = n(n - 1)/2$ , де  $F1$  – кількість створюваних гібридних комбінацій;  $n$  – кількість форм, що вивчається.

Суть діалельних реципрокних схрещувань полягає в гібридизації всіх форм між собою в прямому і зворотному напрямку .

Метод топкросу полягає в оцінюванні загальної комбінаційної здатності ліній, у схрещуванні всіх оцінюваних ліній з однією формою, яку називають *аналізатором*, або *тестером* (Табл. 2, 3)..

Таблиця 2

### Приклад повних топкросів для восьми материнських ліній (Л) і чотирьох тестерів (Т)

Лінія	Тестер			
	Т 1	Т 2	Т 3	Т
Л 1	+	+	+	+
Л 2	+	+	+	+
Л 3	+	+	+	+
Л 4	+	+	+	+
Л 5	+	+	+	+
Л 6	+	+	+	+
Л 7	+	+	+	+
Л 8	+	+	+	+

Таблиця 3

**Приклад неповних топкросів для восьми материнських форм (Л) і чотирьох тестерів (Т)**

Форми	Тестер			
	Т 1	Т 2	Т 3	Т
Л 1	+		+	
Л 2		+		+
Л 3	+		+	
Л 4		+		+
Л 5	+		+	
Л 6		+		+
Л 7	+		+	
Л 8		+		+

Метод полікросу в деяких випадках використовують для визначення загальної комбінаційної здатності. Цей метод ґрунтується на вільному перезапиленні оцінюваної групи ліній з іншими лініями при розміщенні їх на спільній ділянці, та застосуванні у перехреснозапильних культур, у яких важко щороку виводити гібридне насіння F1 для виробничих посівів (жито, гречка, люцерна). Найчастіше кращі лінії виділені методом полікросу, використовують для створення синтетичних гібридів .

При веденні селекції на гетерозис, необхідно враховувати генетичні дистанції між батьківськими формами .

Це визначає вищий гетерозисний ефект. При значенні і генетичних дистанцій між лініями менше 0,300

Такі зразки можливо використовувати для підвищення продуктивності ліній. Значення генетичних дистанцій вище **0,300** дозволяють рекомендувати аналізовані лінії для гібридизації з метою отримання високогетерозисних гібридів .

Впровадження в селекційну практику **ДНК-технології** оцінки вихідного матеріалу (Рис. 6,7) дозволяє проводити диференціацію та ідентифікацію

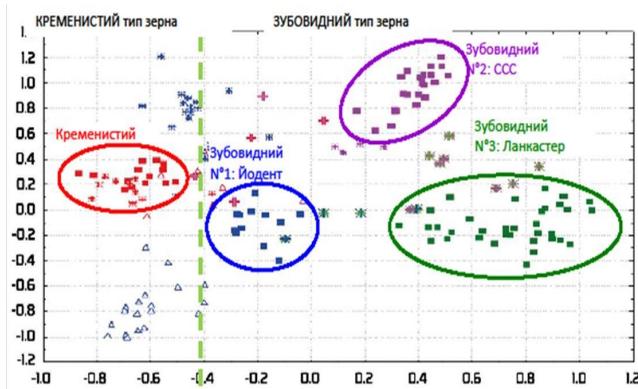


Рис. 6. Молекулярне маркування – ефективний метод визначення генетичної дистанції [9]

ліній і гібридів кукурудзи, визначати ступінь генетичної дивергенції між ними і більш цілеспрямовано підбирати батьківські пари для отримання

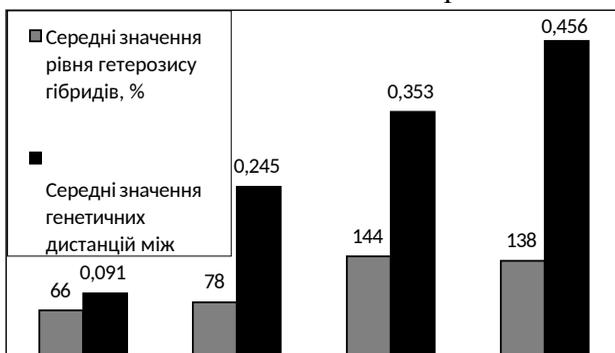


Рис. 7. Порівняння середніх значень генетичних дистанцій між вихідними лініями, розрахованими за даними ISSR-аналізу, і рівня гетерозису відповідних гібридів

високогетерозисних простих гібридів. Компанія Euralis Semences у своїй селекційній роботі при створенні гібридів кукурудзи застосовує у

схрещуваннях в якості батьківських форм різні підвиди кукурудзи дивергентні за генетичною плазмою (Рис. 8).

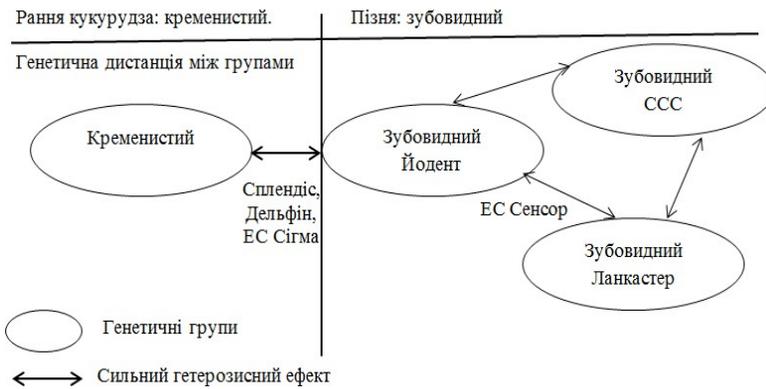
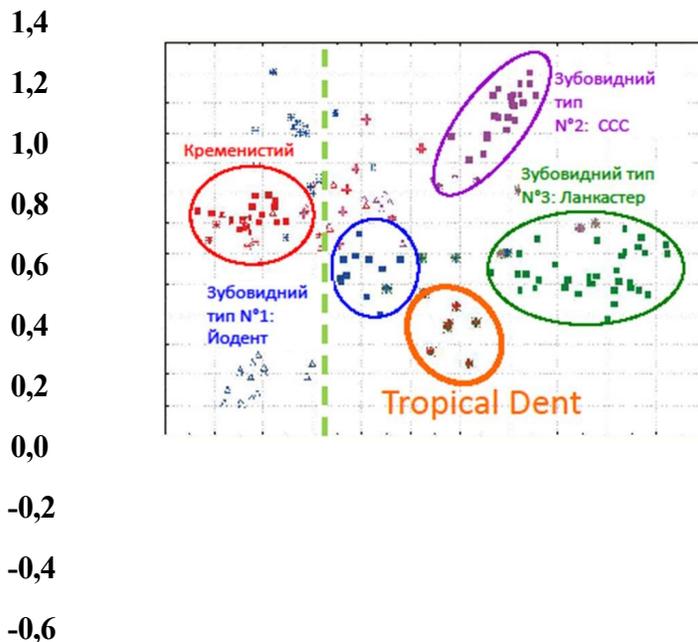


Рис. 8 Селекція на гетерозис із застосуванням дивергентних форм за генетичною плазмою та підвидами кукурудзи [9]

Крім того, застосовується з метою посилення генетичної дивергенції батьківських форм, включення у гібридизацію нової групи із зубовидним типом зерна, зокрема Tropical Dent (Рис. 8,9). Це збільшило генетичну варіативність та значно покращило якісні характеристики нових гібридів. Зокрема, продуктивність як в умовах із високим потенціалом поля, так і в стресових ситуаціях.

Винайдено нову оригінальну не схожу на інші групи із зубовидним типом зерна – **Tropical Dent**



-0,8

-1,0

-1,2 -1,0 -0,8 -0,6 -0,4 -0,2 0,0 0,2 0,4 0,6 0,8 1,0 1,2

Рис.9. Застосування у гетерозисній селекції нової групи із зубовидним типом Tropical

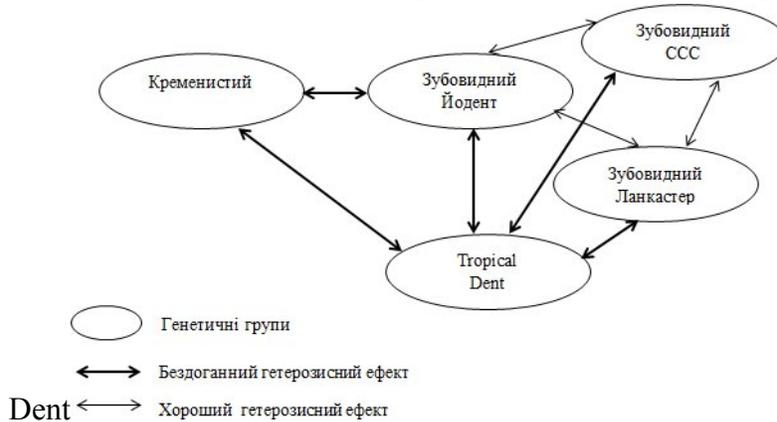


Рис.9. Ефект гетерозису із застосуванням нової групи із зубовидним типом Tropical Dent .

### 3. Типи гібридів кукурудзи.

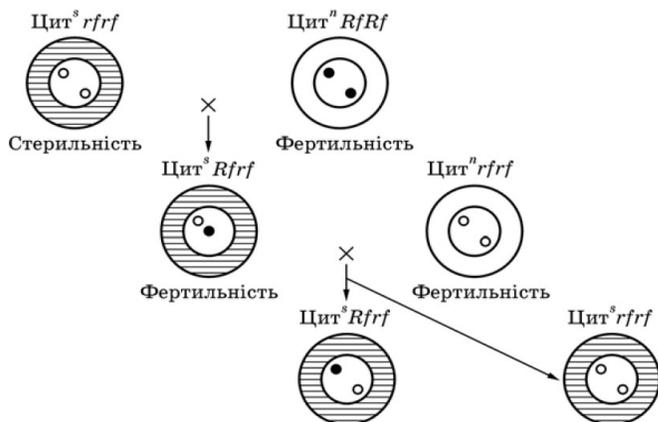
- **Міжлінійні** – створюють схрещуванням самозаплених ліній між собою. Розрізняють залежно від кількості схрещуваних ліній: **прості, трилінійні, подвійні, складні**.
- **Прості гібриди** – схрещуванням двох ліній. Характеризуються високою однорідністю, вирівняністю, простотою насінництва, високою врожайністю. Недоліки: низька продуктивність батьківських форм. Для підвищення їх продуктивності використовують сестринські лінії, які створюють методом бекросу і добору.
- **Трилінійні гібриди** – простий гібрид схрещується із лінією. Вирівнюваність їх менша. Урожайність наближається до простих гібридів.
- **Подвійні міжлінійні гібриди** – схрещування двох простих гібридів. Має низьку вартість насіння на материнській формі, простого високоврожайного гібриду.
- **Складні 5-6-7-8... лінійні гібриди**. У таких гібридів батьківські форми характеризуються високою продуктивністю й адаптивністю, що знижує собівартість не тільки товарного насіння, а й батьківських форм.
- **Синтетичні популяції** – створюються перезапленням великої кількості кращих за комбінаційною здатністю ліній із наступним добром. У таких популяціях упродовж кількох років підтримується гетерозис внаслідок перекомбінування генів у розщеплюваного потомства

Значення цитоплазматичної чоловічої стерильності в селекції на гетерозис.

При вирощуванні гібридного насіння для виробничого посіву батьківські форми, які забезпечують при схрещуванні ефект гетерозису, висівають рядами, чергуючи материнські й чоловічі форми. Гетерозисне насіння F1 збирають тільки з материнської форми. Для забезпечення запилення материнських форм пилом чоловічих рослин на материнських

потрібно видалити з квіток пиляки або чоловічі квітки, або їх суцвіття. У рослин з дрібними двостатевими квітками, особливо самоzapильних, виконати цю операцію в такому масштабі, щоб мати промислове насіння, практично неможливо. На перших етапах практичного використання гетерозисного насіння, наприклад кукурудзи, чоловічі суцвіття на материнських рослинах видаляли вручну.

Найповніше вивчена природа ЦЧС, яка виявляється при взаємодії стерильної



цитоплазми (цит S) і рецесивних (*rfrf*) генів ядра (Рис. 10).

Рис. 10. Схема успадкування цитоплазматичної чоловічої стерильності.

Стерильна цитоплазма (цит s) зумовлює стерильність пилку тільки за наявності в генотипі рослини рецесивних генів *rf* у гомозиготному стані цитs *rfrf*. Якщо ген – відновник фертильності представлений хоча б одним домінантним алелем *Rf*, то рослини цитs *RfRf* і цитs *Rfrf* будуть фертильними. Фертильними також будуть рослини з рецесивними генами *rfrf*, але нормальною цитоплазмою цитn *rfrf*.

Використання ЦЧС у селекції на гетерозис. Найбільших успіхів досягнуто в таких культурах (**кукурудза, сорго, соняшник, цукрові буряки**).

Стерильні рослини трапляються безпосередньо в сортах популяцій, а також внаслідок схрещувань рослин у межах виду і при віддаленій гібридизації.

Типи ЦЧС у кукурудзи: техаський, молдавський, парагвайський, болівійський.

Метод отримання гібридного насіння кукурудзи без видалення волоті на основі ЦЧС розпочали застосовувати на початку 50-х років минулого століття. Для створення гібридів кукурудзи на стерильній основі необхідно:

1. Стерильні аналоги самоzapилених ліній;
2. Лінії – закріплювачі стерильності;
3. Лінії – відновники фертильності.

Стерильні аналоги створюються методом насичуючих схрещень. Аналоги відновники фертильності: на фертильній основі, на стерильній основі і комбіновані.

У кукурудзи використовується чотири типи ЦЧС:

- Техаський – Т;
- Молдавський – М;
- Парагвайський – С;

- Болівійський – Б.

Комплементарні гени Rf1 і Rf2 є відновниками фертильності Т – типу; Ген Rf 3 – М – типу;

Гени Rf 4, Rf 5, Rf 6 – С – типу; Ген - Rf var – Б – типу

ЦЧС [1, 2].

Закріплювачем стерильності називають лінію, при запиленні пилком якої стерильність зберігається. Наприклад лінія ВІР 38 – закріплювач молдавського типу стерильності, а лінія ВІР 26 – закріплювач стерильності техаського типу.

**Стерильні аналоги** материнських форм гібридів створюють методом повторних насичувальних схрещувань (бекросів). Для переведення фертильної материнської форми гібрида (це може бути лінія, сорт або простий гібрид) на стерильну основу потрібно стерильну форму (назвемо її умовно  $A_s$ ), знайдену селекціонером, запилити пилком тієї форми, яку потрібно перевести на стерильну основу.

Наприклад, простий міжлінійний гібрид кукурудзи Дніпровський 758 ТВ створено схрещуванням ліній ДС-103ТхА619ТВ. Материнською формою цього гібрида є лінія ДС-103. Щоб мати стерильний аналог цієї лінії, потрібно стерильну форму запилувати пилком лінії ДС-103 .

### Запитання для самоперевірки

1. Перевага гетерозисних гібридів над сортом.
2. Інцухт та його використання в селекції на гетерозис. Закономірності прояву гетерозису.
3. Ефект гетерозису в першому та наступних гібридних поколіннях.
4. Методи визначення загальної і специфічної комбінаційної здатності.
5. Селекція на комбінаційну здатність.
6. Методи поліпшення самозапилених ліній.
7. Типи гібридів кукурудзи.
8. Використання ЦЧС (чоловічої стерильності) у селекції на гетерозис.
9. Переведення ліній і сортів на стерильну основу.
10. Створення аналогів-відновлювачів фертильності.
11. Схема використання у виробництві гібридного насіння кукурудзи.