

UDK

## LINIJE KUKURUZA L-70/9 i B-73RfC NOSE GEN $Rf4$ NA ISTOM LOKUSU

VANČETOVIĆ JELENA, VIDAKOVIĆ M. i BABIĆ M.<sup>1</sup>

*IZVOD: Nasledivanje povraćaja fertilitnosti kod cms-C tipa muške sterilnosti kukuruza je po svojoj prilici veoma složeno. Smatra se da postoji više paralelnih genetičkih sistema, koji mogu biti i duplikacije istih, od kojih su neki sistemi od bar tri komplementarna dominantna gena. Postoji indikacija o duplikaciji gena  $Rf4$  (Sisco, 1991), koja je testirana u ovom radu uz pomoć linija L-70/9 i B-73RfC, koje obe poseduju dominantan alel  $Rf4$ . Naši rezultati su negativni, odnosno duplikacija ovog gena u našem radu nije potvrđena.*

**Ključne reči:** kukuruz, cms-C, duplikacija,  $Rf4$

UVOD: Povraćaj fertilitnosti kod cms-C tipa citoplazmatičke muške sterilnosti kod kukuruza veoma je složen, pa su i rezultati objavljeni u literaturi veoma kontradiktorni. Tako je Duvick (1972) utvrdio da je potpun povraćaj fertilitnosti kod cms-C uslovljen dominantnim alelom gena  $Rf4$ .

Josephson i Morgan (1978) su utvrdili da je za potpun povraćaj fertilitnosti kod cms-C neophodno prisustvo najmanje po jednog dominantnog alela restorer gena  $Rf4$  i  $Rf5$ , koji deluju komplementarno. Paralelnom analizom drugih ukrštanja isti autori su zaključili da se njihovi rezultati ukrštanja sa linijom T-220 mogu objasniti samo postojanjem i trećeg gena, koga su označili sa  $Rf6$ . Gracen i sar. (1979), međutim, nisu potvrdili rezultate Josephson-a i Morgan-a (1978), već su zaključili da povraćaj fertilitnosti kod cms-C zavisi od jednog restorer gena  $Rf4$  sa dominantno-recesivnim nasledivanjem, mada su i ovi autori u svojim ranijim istraživanjima kod nekih ukrštanja utvrdili dihibridno razdvajanje u F2 generaciji.

Vahruševa (1983) je u svojim istraživanjima utvrdila da je povraćaj fertilitnosti kod cms-C uslovljen sa tri dominantna gena,  $Rf4$ ,  $Rf5$  i  $Rf6$ , koji deluju komplementarno, tako da je potpuni povraćaj fertilitnosti moguć samo u prisustvu sva tri dominantna gena.

Prema novijim rezultatima za ovu osobinu postoji više paralelnih sistema dominantnih komplementarnih gena, pri čemu je za neke od njih poznato da predstavljaju sisteme od po tri komplementarna gena -  $Rf4$ ,  $Rf5$  i  $Rf6$  (Vidaković, 1988).

Vidaković i sar. (1997) su nedvosmisleno utvrdili postojanje paralelnog sistema za povraćaj fertilitnosti kod cms-C, koji može biti ili nezavisan sistem, ili duplikacija već poznatog sistema.

Sisco (1991) je, mapirajući gen  $Rf4$  pomoću RFLP analize u liniji A619, našao da se on nalazi na hromozomu 8, ali da velika duplikacija nukleotidne sekvence nađena na hromozomu 3 komplikuje ovo mapiranje. Pošto je ova sekvenca blizu gena  $Rf4$  na hromozomu 8, on zaključuje da se na hromozomu 3 može naći još jedan  $Rf$  gen.

Da bismo testirali hipotezu o postojanju duplikacije za gen  $Rf4$  pošli smo od genotipova tri linije kukuruza koje je utvrdio Vidaković (1988):

B-73RfC-  $Rf4 Rf5 Rf6$   
B-73 -  $rf4 Rf5 Rf6$   
L-70/9 -  $Rf4 rf5 rf6$

Ideja je bila ukrstiti, u sterilnoj citoplazmi, linije B-73 i L-70/9 (B-73Bbms x L-70/9), a zatim putem 3 sukcesivne samooplodnje po pedigreu izdvojiti fertilan genotip Bbms  $Rf4$

Predhodno saopštenje (Short communication)

<sup>1</sup> JELENA VANČETOVIĆ, istraživač saradnik, VIDAKOVIĆ, M., istraživač saradnik. i BABIĆ, M., istraživač saradnik Institut za kukuruz "Zemun Polje"

*Rf5 Rf6* ("BL" genotip), čiji je gen *Rf4* poreklom iz linije L-70/9. S druge strane, već smo imali liniju B-73RfC u sterilnoj citoplazmi (B-73cmsC-RfC), sa već ugrađenim genom *Rf4*. Ukrštanjem ova dva genotipa i proizvodnjom F2 i BC2 generacija, ukoliko bismo utvrdili odnos fertilnih:sterilnim biljkama od 15:1 u F2, a potpunu fertilnost u BC2 generaciji (Vidaković i sar., 1997), ova duplikacija bila bi dokazana.

### Materijal i metode rada

Za ovo istraživanje odabrane su tri inbred linije kukuruza: B-73Bbms (sterilna linija), L-70/9 (nonrestorer za *cms-C*) i B-73cmsC-RfC (restorer linija u sterilnoj citoplazmi). Proizvodnja tzv. "BL" genotipa urađena je na sledeći način:

1993. god. urađeno je ukrštanje B-73Bbms x L-70/9 u Zemun Polju

1993/94 urađena je samooplodnja ovog ukrštanja u Zambiji radi proizvodnje F2 generacije

1994. god. posejana je ova F2 generacija i izvršena samooplodnja pojedinačnih biljaka po pedigreu u Zemun Polju

1995. god. posejano je 12 potomstava iz ove F2 generacije klip na red u Zemun Polju, od kojih je jedno bilo 100% fertilno; iz ovog potomstva dalje je urađena samooplodnja pojedinačnih biljaka

Proizvodnja potrebnih generacija za zapažanje fertilnosti/sterilnosti:

1996. god. posejano je 14 potomstava iz prethodne godine klip na red u Zemun Polju, od kojih su 4 bila 100% fertilna i predstavljala su tzv. "BL" genotip, konstitucije Bbms *Rf4 Rf5 Rf6*. Istovremeno su po pedigreu urađena recipročna ukrštanja ova 4 potomstva sa B-73cmsC-RfC i time proizvedena F1 generacija za zapažanja.

1997. god. urađena su BC2 ukrštanja po pedigreu, i to kod 5 F1 potomstava kod kojih je "BL" genotip bio otac, a 4 F1 gde je B-73cmsC-RfC bila otac. Pošto su prethodne godine recipročna ukrštanja bila moguća samo po pedigreu oca (na biljci majke je samo hibridno seme, a na ocu se vrši samooplodnja), to je bilo moguće uraditi samo BC2 ukrštanja po pedigreu. Ovih 9 F1 potomstava bilo je 100% fertilno, sa prosečno posejanih po 20 biljaka. Iste godine

urađena je i samooplodnja ovih 9 F1 potomstava klip na red, za proizvodnju F2 generacija za zapažanja.

Zapažanje fertilnosti/sterilnosti proizvedenih generacija:

2002. god. posejane su proizvedene generacije u Zemun Polju, i to: 4 seta generacija gde je "BL" genotip bio otac u F1 generaciji (koji su imali dovoljno semena) i 3 seta gde je B-73cmsC-RfC bila otac u F1 generaciji. Od svake originalne F1 generacije u proseku je bilo po 30 biljaka, a od originalnog oca za proizvodnju te F1 generacije po 50 biljaka. Od svake BC2 generacije po pedigreu bilo je prosečno po 50 biljaka, i po 30 biljaka od oca za proizvodnju ovih BC2 generacija. U proseku je bilo po 5 parova BC2 + otac po pedigreu iz potomstava iz svake pojedinačne F1 generacije. Ovi očevi su sejani da bismo se uverili jesu li ovo zaista potpuni restoreri za *cms-C* (odsustvo sterilnih biljaka je dokaz za ovo). Od svake F2 generacije bilo je u proseku po 200 biljaka od svakog od po 5 samooplođenih klipova iz F1, što čini ukupno oko 1000 biljaka po F2 generaciji. Ovaj broj biljaka u ispitivanim generacijama smatrali smo dovoljnim za dobijanje statistički pouzdanih rezultata.

### Rezultati i diskusija

Ni jedna sterilna biljka nije nađena u svim ispitivanim generacijama, što nam govori da linije L-70/9 i B-73RfC nose alel *Rf4* na istom lokusu. Ovime nismo dokazali postojanje duplikacije gena *Rf4/rf4*, što ne znači da ona i ne postoji, s obzirom na vrlo mali uzorak linija sa kojima smo radili (svega tri). Moguće je da duplikacija zaista postoji, ali da ove dve linije na jednom lokusu obe imaju dominantan alel *Rf4*, a na drugom recesivan *rf4*, što se nije moglo utvrditi korišćenom metodom.

### Zaključak

I pored postojećih indikacija o postojanju duplikacije gena *Rf4* kod kukuruza, korišćenim metodama u ovom radu mi je nismo potvrdili. Možda bi ispitivanje sa većim brojem linija (u našem radu korišćene su samo tri) dalo drugačije rezultate.

## LITERATURA

- DUVICK, D.N. (1972): Potential usefulness of new cytoplasmic male steriles and sterility systems. Proc. of the 27th Ann. Corn and Sorghum Res. Conf., pp. 197-201.
- GRACEN, V.E., KHEYR-POUR, E.D. EARLE, and P. GREGORY (1979): Cytoplasmic inheritance of male sterility and pest resistance. Proc. of 34th Ann. Corn and Sorghum Res. Conf., pp. 76-91.
- JOSEPHSON, L.M., and T.E. MORGAN (1978): Genetic and inheritance of fertility restoration of male-sterile cytoplasm in corn. Proc. 33th Corn Res. Conf., pp. 7-13. Amer. Seed Trade Assoc.
- SISCO, P.H. (1991): Duplications complicate genetic mapping of *Rf4*, a restorer gene for *cms-C* cytoplasmic male sterility in corn. Crop Sci., 31: 1263-1266.
- VAHRUŠEVA, E.J., i M.T. FRANKOVSKAJA (1984): Nasledovanje sterilnosti i fertilitnosti v-C-tipe *cms* u kukuruži. Dokladi, Vashnil, 4: 5-7.
- VIDAKOVIC, M. (1988): Genetics of fertility restoration in cytoplasmic male sterility of the C-type (*cmsC*) in maize (*Zea mays* L.). Maydica, 33: 51-64.
- VIDAKOVIC, M., J. VANCETOVIC, and M. VIDAKOVIC (1997): The existence of a duplicated or parallel genetic system for fertility restoration in *cmsC* of maize (*Zea mays* L.). Maydica, 42: 313-316.

### LINES OF CORN L-70/9 AND B-73 RfC ARE CARRYING THE GENE *Rf4* ON THE SAME LOCI

VANČETOVIC JELENA, VIDAKOVIĆ M., and BABIĆ M.

#### SUMMARY

The inheritance of the fertility restoration in *cms-C* in maize is very complex, and there are many contradictory results in the literature. There is an indication that there are different parallel or duplicated systems some of which include at least three complementary dominant genes - *Rf4*, *Rf5*, *Rf6*. Also, there is an indication of the duplication of the gene *Rf4*, which was tested in this work. We used three lines of different genetic constitution regarding *Rf* genes (B-73Bbms, L-70/9 and B-73cmsC-RfC) and produced different genotypes, combinations of genotypes and generations between them for the screening of fertility/sterility. The results of this work are negative, i.e. we did not prove the duplication of the *Rf4* gene. This may be because of the relatively small number of lines that we have used (only three), or because there really is no duplication of the investigated gene.

**Key words:** maize, *cms-C*, duplication, *Rf4*