

## Korelacija genetičke distance samooplodnih linija kukuruza (*Zea mays* L.) sa heterozisom i PKS za prinos zrna

- Originalan naučni rad -

Jelena SRDIĆ, Snežana DRINIĆ-MLADENOVIĆ i Zorica PAJIĆ  
Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun

**Izvod:** U radu su na osnovu rezultata analize proteinskih markera i dijalelene analize (10x10), utvrđene korelacije između genetičke distance (GD) 10 samooplodnih linija i heterozisa, kao i PKS (posebnih kombinacionih sposobnosti) njihovih hibridnih kombinacija za prinos zrna kukuruza.

Najmanja vrednost GD utvrđena je između dve linije poreklom iz istog izvora germplazme, koje su pored toga imale i zajedničkog oca. Maksimalne vrednosti GD utvrđene su između dva para linija, poreklom iz divergentnih heterotičnih grupa, koje se međusobno dobro kombinuju.

Grupisanje linija koje je odgovaralo dvema heterotičnim grupama potvrđeno je klaster analizom na osnovu proteinskih markera, a takođe je u saglasnosti sa klasterima na osnovu podataka o heterozisu i PKS za prinos zrna kukuruza. Kod oba klastera linije su bile klasifikovane u dve grupe. I grupu obrazovale su linije BSSS tipa, dok su II grupu činile linije *Lancaster* tipa germplazme. Utvrđena odstupanja bila su kod linija koje nisu pripadale osnovnim heterotičnim grupama. PC analiza uglavnom je dala iste rezultate.

*Spearman*-ovim koeficijentom korelacije ranga utvrđena saglasnost podataka dobijenih na osnovu GD linija sa heterozisom i PKS za prinos zrna. Ovim je proverena preciznost klasifikovanja samooplodnih linija u odgovarajuće heterotične grupe na osnovu izračunate GD. Jača i visoko značajna korelacija utvrđena je između GD i heterozisa ( $r_s=0,422^{**}$ ), dok je za odnos GD-PKS iznosila  $r_s=0,309^*$ .

**Ključne reči:** Genetička distanca, heterozis, klaster analiza, PCA, PKS.

## Uvod

Uspeh programa oplemenjivanja kukuruza zavisi prvenstveno od efikasnosti metoda korišćenih za što bržu identifikaciju linija koje daju potencijalno dobre hibride, *Hallauer* i *Lopez-Perez*, 1979, *Hallauer*, 1990. Metode koje ovo obezbeđuju ne mogu se zasnivati samo na proučavanju fenotipskih karakteristika, već zahtevaju dobro poznavanje strukture genoma biljke. Genetički markeri predstavljaju metodu kojom je dobijeno mnogo više informacija o strukturi i funkciji genoma samooplodnih linija i njihovih hibridnih kombinacija, nego bilo kojom drugom metodom klasične selekcije.

Značajan parametar koji može da ukaže na genetičku osnovu heterozisa na molekularnom nivou je nivo varijacije u ekspresiji različitih gena između roditeljskih linija ili linija i F<sub>1</sub> hibrida, *Tsaftaris i sar.*, 2000. Ova varijabilnost može se proceniti na nivou proteina, proučavanjem varijabilnosti količine pojedinih proteina, *Damerval i sar.*, 1987, *Leonardi i sar.*, 1991.

Neki istraživači predlažu proteine kao genetičke markere, jer oni kao specifični produkti gena mogu da ukažu na genetičku specifičnost ispitivanog materijala i na osnovu toga mogu biti korišteni kao markeri za karakterizaciju hibrida i samooplodnih linija kukuruza, kao i za ispitivanje genetičke čistoće semena, *Koranyi*, 1989, *Drinić-Mladenović i Konstantinov*, 2002, *Wang i sar.*, 1994.

Istraživanja su pokazala pouzdanost ove metode u pogledu karakterizacije samooplodnih linija i njihovog svrstavanje u heterotične grupe, *Konstantinov i Drinić-Mladenović*, 2000. Predviđanje heterotičnog efekta prilikom hibridizacije samooplodnih linija ispitano je korelacijom između heterozisa za prinos i indeksa sličnosti izračunatog na osnovu proteinskih markera, *Drinić-Mladenović i sar.*, 1996. Ovim je utvrđeno da se ispoljeni heterozis za prinos značajno povećava što su razlike između linija na osnovu polimorfizma proteina veće.

## Materijal i metode

Deset samooplodnih linija standardnog kvaliteta zrna, različitog porekla i iz različitih heterotičnih grupa ukrštano je po principu dijalelnog metoda bez recipročnih kombinacija. Linije srednje rane vegetacije bile su: ZPPL 149 i ZPPL 225 (BSSS), ZPPL148 (Wf 9), ZPPL 151 i ZPPL 204 (Lancaster), dok su srednje kasne bile sledeće linije: ZPPL 15 (BSSS), ZPPL 200 i ZPPL 80 (Lancaster), B 97 i ZPPL 52 iz nesrodnog izvora.

Analiza kombinacionih sposobnosti urađena je po modelu *Griffing*-a, 1956, a heterozis je računat u odnosu na boljeg roditelja, *Kraljević-Balalić i sar.*, 1991.

Proteini su izolovani iz klice po metodi *Wang*-a i *sar.*, 1994. Primenjena je SDS-PAGE elektroforeza (SDS - *polyacrylamide gel electrophoresis*) po metodi *Laemmli*-a, 1970. Na osnovu dobijenih rezultata utvrđena je GD za parove samooplodnih linija po formuli *Nei*-a i *Li*-a, 1979, a ove vrednosti su poslužile za izvođenje klaster analize i analize glavne komponente (PCA - *principal component analysis*).

Na osnovu matrice GD urađena je klaster analiza UPGMA metodom u SAHN programu uz pomoć NTSYS-pc softvera, **Rohlf**, 2000. Klaster analiza takođe je primenjena i na rezultate heterozisa i PKS prinosa zrna. Na osnovu sva tri posmatrana parametra urađena je PCA pomoću programa DCENTER i EIGEN.

Korelacija rezultata dijalela sa podacima dobijenim na osnovu proteinskih markera utvrđena je uz pomoć *Spearman*-ovog koeficijenta korelacije ranga  $r_s$ , **Zar**, 1999.

### Rezultati i diskusija

Najmanja vrednost GD bila je između linija ZPPL 204 i ZPPL 200 (0,094). Ove linije pripadaju germplazmi istog porekla, odnosno tipa Lancaster, a takođe poseduju i zajedničkog oca. Maksimalne vrednosti GD uočene su između dva para linija ZPPL 148 - ZPPL 15 i ZPPL 148 - ZPPL 52 (0,359). To je ujedno potvrda o poreklu ovih linija, s obzirom da je linija ZPPL 148 poreklom iz heterotične grupe Wf 9, dok je linija ZPPL 15 dobijena rekurentnom selekcijom iz Iowa Stiff Stalk Synthetic-a, a linija ZPPL 52 predstavlja nesrodan izvor tvrdog zrna, evropskog porekla koji se dobro kombinuje sa drugim heterotičnim grupama (Tabela 1).

Klaster analiza primenjena je na podacima o genetičkoj distanci (Grafikon 1), heterozisu (Grafikon 2) i PKS.

Dendrogram koji je dobijen na osnovu GD analiziranih genotipova ukazuje na to da su linije raspoređene u dve grupe, odnosno klastera. Ovi klasteri jasno razdvajaju genotipove koji po poreklu odgovaraju heterotičnim grupama BSSS i Lancaster (Grafikon 1).

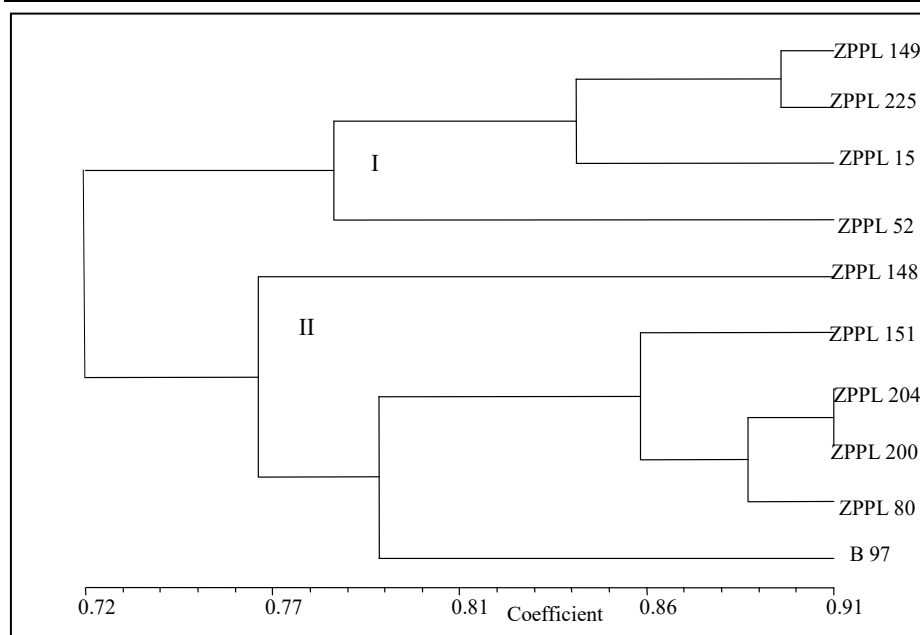
Prvi klaster sadrži linije poreklom iz heterotične grupe BSSS i obuhvata linije ZPPL 149 i ZPPL 225, koje su međusobno vezane u jedan subklaster, a za njih je vezana linija ZPPL 15. Ovaj klaster sadrži još jednu liniju koja je za njega slabo vezana, a to je linija tvrdog zrna ZPPL 52, koja vodi poreklo iz nesrodnog izvora u odnosu na obe heterotične grupe i pripada evropskoj germplazmi (Grafikon 1).

Drugi klaster sadrži linije koje su uglavnom Lancaster tipa germplazme. I ovde je primetno izdvajanje subklastera - naime dve linije, ZPPL 204 i ZPPL 200, kao linije sa zajedničkim roditeljem čine jedan subklaster, zajedno sa linijom ZPPL 80. Za ovaj subklaster vezana je linija ZPPL 151, koja je takođe pripadnik ove heterotične grupe. Dve linije B 97 i ZPPL 148 labavo su vezane za subklaster Lancaster. Linija B 97 poreklom je iz nesrodnog izvora i bolje se kombinuje sa linijama iz heterotične grupe BSSS-a, što je samim tim čini genetički udaljenijom od te grupe, dok linija ZPPL 148 vodi poreklo iz treće heterotične grupe Wf 9, a prema dobijenim podacima pokazalo se da je genetički bliža Lancaster grupi linija (Grafikon 1).

Klaster analiza na osnovu podatka o heterozisu (Grafikon 2), primenjena je kako bi se proverila preciznost klasifikovanja samooplodnih linija u odgovarajuće heterotične grupe na osnovu izračunate genetičke distance.

Osnova grupe I na oba grafika su samooplodne linije koje po poreklu





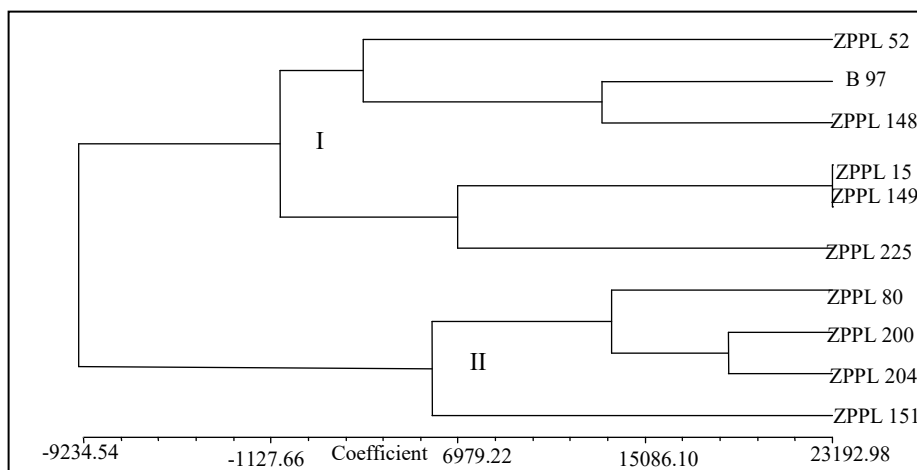
Grafikon 1. Klaster na osnovu GD 10 samooplodnih linija kukuruza  
Cluster based on GD of 10 inbred lines

pripadaju heterotičnoj grupi BSSS, dok su u grupi II uvek bile zastupljene linije Lancaster tipa germplazme. Razlika u klasifikovanju genotipova između klastera na osnovu genetičke distance i heterozisa, javila se u pogledu rasporeda linija koje po poreklu nisu pripadnici dve osnovne heterotične grupe. Naime, linije ZPPL 52 (evropskog porekla), B 97 (iz nesrodnog izvora) i ZPPL 148 (Wf 9), su na Grafikonu 2 bile grupisane u subklaster grupe I, odnosno BSSS grupe. Za razliku od ovoga, linija ZPPL 52 je prema klaster analizi na osnovu GD pripadala klasteru BSSS, dok su druge dve bile labavo vezane za klaster grupe Lancaster (Grafikon 1).

Grupisanje linija klaster dijagramima na osnovu GD u heterotične grupe, koje odgovaraju onima dobijenim na osnovu porekla tih linija i heterotičnog efekta koji su ispoljile potvrđeno je u mnogobrojnim radovima, *Smith i sar.*, 1990, *Melchinger*, 1990, *Erić*, 2004.

Rezultati dobijeni na osnovu PC analize genetičkih distanci bili su u saglasnosti sa klaster analizom. Na jednoj strani jasno su se grupisali genotipovi koji pripadaju Lancaster tipu germplazme (3, 4, 6 i 7), a na drugoj pripadnici BSSS grupe (5, 8 i 10) (Grafikon 3).

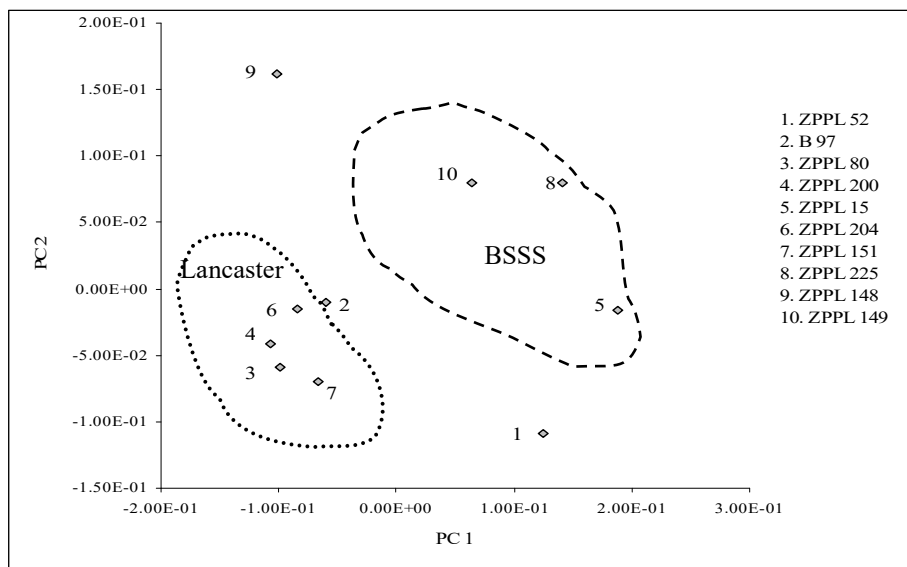
Hibridi Lancaster tipa germplazme grupisani su mnogo gušće, od drugog tipa, a njima vrlo blizu nalazila se i linija B 97 (2), koja je i po klaster analizi pokazala slične osobine. Prema rezultatima PC analize najbliži međusobno bili su genotipovi 3 i 4, 2 i 6. Druga grupa, koja odgovara heterotičnoj grupi BSSS, bila je



Grafikon 2. Klaster na osnovu heterozisa za prinos zrna kukuruza  
Cluster based on data for grain yield heterosis

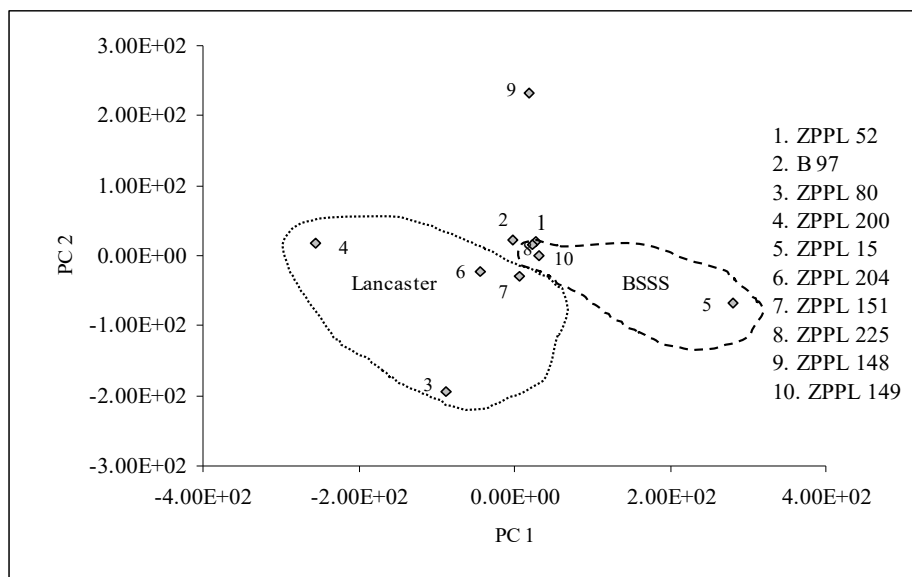
mnogo manje kompaktna i razlike unutar nje među genotipovima bile su veće. Genotipovi 1 i 9 ne pripadaju ni jednoj grupi i pokazuju najveće međusobne razlike (Grafikon 3).

Grupisanje linija u heterotične grupe uz pomoć grafikona PC analize na osnovu heterozisa za prinos zrna kukuruza nije tako precizno kao na osnovu prethodnog grafikona. Genotipovi koji su gusto grupisani u srednjem delu grafikona,



Grafikon 3. PC analiza na osnovu GD 10 samooplodnih linija kukuruza  
PCA based on GD of 10 inbred lines

oko preseka nultih ordinata, različitog su porekla. Veće razlike primećene su unutar grupe Lancaster, gde je najveća sličnost bila između genotipa 6 i 7. Unutar grupe BSSS slične su bile linije 8 i 10, dok je linija 5 bila izdvojenija (Grafikon 4).



Grafikon 4. PC analiza na osnovu heterozisa za prinos zrna kukuruz  
PCA based on data for grain yield heterosis

Korišćenje samo PCA ili klaster analize može da doprinese nedovoljno sigurnoj proceni pri svrstavanju linija u heterotične grupe, *Pinto i sar.*, 2003. Zbog toga ovi autori predlažu korišćenje obe metodologije, kako bi se sa većom pouzdanošću genotipovi klasifikovali u odgovarajuće heterotične grupe.

Jačina veze između genetičke distance, heterozisa i posebnih kombinacionih sposobnosti za osobinu prinos zrna kukuruza utvrđena je na osnovu *Spearman*-ovog koeficijenta korelacije. Ovim koeficijentom ustanovljeno je da je visoko značajna veza bila između GD linija i heterozisa za prinos zrna ( $r_s = 0,422^{**}$ ), dok je nešto niža i značajna vrednost utvrđena između genetičke distance i PKS prinosa zrna ( $r_s = 0,309^*$ ).

Negativna značajna korelacija utvrđena je između heterozisa za prinos i genetičke sličnosti roditeljskih linija na osnovu polimorfizma proteina, *Drinić-Mladenović i sar.*, 1996. Istraživanja u ovom radu u saglasnosti su sa ovim, jer genetička sličnost predstavlja recipročnu vrednost genetičkoj distanci.

Pozitivne i značajne ili visoko značajne korelacije utvrđene su između heterozisa za prinos ili PKS i genetičke distance na osnovu različitih metoda molekularnih markera, *Melchinger*, 1990, *Benchimol i sar.*, 2000, *Drinić-Mladenović i sar.*, 2002. Zaključak svih ovih istraživanja ipak je bio da i pored toga što je

koeficijent korelacije između heterozisa za prinos zrna i GD bio pozitivan i uglavnom značajan, nije dovoljno visok da bi se sa sigurnošću koristio u predviđanju heterozisa. Genetička distanca mogla bi da se koristi za svrstavanje genotipova u odgovarajuće heterotične grupe, ali ne i u predviđanju osobina i potencijala hibrida.

### Zaključak

Vrednosti koeficijenta korelacije ranga govore o dobrom slaganju podataka dobijenih na osnovu proteinskih markera sa podacima o heterozisu i posebnim kombinacionim sposobnostima. Podudarnost ovih podataka u smislu klasifikacije linija u heterotične grupe potvrđena je klaster i PC analizom.

Korišćenjem molekularnih markera, procena genetičke divergentnosti linija postaje jednostavnija, te se veći broj linija može svrstati u odgovarajuće heterotične grupe. Podaci dobijeni na ovaj način, u korelaciji su sa podacima zasnovanim na morfološkim karakteristikama ili poreklu genotipova, ali se njihova superiornost iskazuje u količini i brzini obrađenih podataka. To pruža izvrsne mogućnosti u skraćivanju procesa selekcije, a povećanju obima testiranog materijala, što ujedno doprinosi efikasnijem sprovođenju oplemenjivačkih programa. Ipak, niska vrednost koeficijenta korelacije ranga ostavlja dilemu da li je to dovoljno i za procenu hibridnog potencijala planiranih ukrštanja.

### Literatura

- Benchimol, L.L., C.L. Souza Jr., A.A.F. Garcia, P.M.S. Kono, C.A. Mangolin, A.M.M. Barbosa, A.S.G. Coelho and A.P. Soza** (2000): Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. *Plant Breed.* 119: 491-496.
- Damerval, C., Y. Hebert and D. de Vienne** (1987): Is the polymorphism of protein amounts related to phenotypic variability? A comparison of two-dimensional electrophoresis data with morphological traits in maize. *TAG* 74: 194-202.
- Drinić-Mladenović, S., T. Ćorić and K. Konstantinov** (1996): Embryo salt soluble proteins as markers in research on the biological background of heterotic gene expression. *MGNL* 70: 71.
- Drinić-Mladenović, S. i K. Konstantinov** (2002): Korišćenje proteinskih markera za karakterizaciju i utvrđivanje genetičke čistoće semena kukuruza. *Selekcija i semenarstvo* 8: 1-8.
- Drinić-Mladenović, S., S. Trifunović, G. Drinić and K. Konstantinov** (2002): Genetic diversity and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR-based markers. *Maydica* 47: 1-8.
- Erić, I.** (2004): Genetička karakterizacija ZP hibrida kukuruza (*Zea mays* L.) iz različitih ciklusa selekcije primenom molekularnih markera. Magistarski rad, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd.



- Griffing, B.** (1956): Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian J. Biol. Sci.* 9: 463-93.
- Hallauer, A.R.** (1990): Methods used in developing maize inbred. *Maydica* 35: 1-16.
- Hallauer, A.R.** and **E. Lopez-Perez** (1979): Comparisons among testers for evaluating lines of corn. *Proc. Ann. Corn and Sorghum Res. Conf.* 34: 57-75.
- Konstantinov, K.** i **S. Drinić-Mladenović** (2000): Genetički markeri viših biljaka. U: U: "Biomarkeri: struktura, detekcija i funkcija", izd. Savremena biofizika, Velarta, Beograd.
- Koranyi, P.** (1989): Simple purity checking of maize lines and hybrids by protein monomer analysis. *Seed Sci. & Tehnology* 17: 161-168.
- Kraljević-Balalić, M., S. Petrović** i **Lj. Vapa** (1991): Genetika: teorijske osnove sa zadacima, izd. Poljoprivredni i Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Leammi, U.K.** (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. *Nature* 227: 680-85.
- Leonardi, A., C. Damerval, Y. Hebert, A. Gallais** and **D. de Vienne** (1991): Association of protein amount polymorphism (PAP) among maize lines with performance of their hybrids. *TAG* 82: 552-560.
- Melchinger A.E., M. Lee, K.R. Lankey** and **W.L. Woodman** (1990): Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms: relation to estimated genetic effect in maize inbreds. *Crop Sci.* 30: 1033-40.
- Nei, M.** and **W.H. Li** (1979): Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 76: 5269-5273.
- Pinto, R. de M.C., C.L. de Souza Jr., L.A. Carlini-Garcia, A.A.F. Garcia** and **A. Pereira de Souza** (2003): Comparison between molecular markers and diallel crosses in the assignment of maize lines to heterotic groups. *Maydica* 48: 63-73.
- Rohlf, F.J.** (2000): NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.0 Exeter Software, Setaket, N.Y.
- Smith, O.S., J.S.C. Smith, S.L. Bowen, R.A. Tenborg** and **S.J. Wall** (1990): Similarities among group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F<sub>1</sub> grain yield, garin yield, heterosis and RFLPs. *TAG* 80: 833-840.
- Tsaftaris, A.S., A.N. Polidoros** and **E. Tani** (2000): Gene regulation and its role in hybrid vigor and stability of performance. *Genetika* 32: 189-201.
- Wang, C., K. Bian, H. Zhang, Z. Zhou** and **J. Wang** (1994): Polyacrilamide gel electrophoresis of salt soluble proteins for maize variety identification and genetic purity assessment. *Seed Sci. & Tehnology* 22: 51-57.
- Zar, J.H.** (1999): *Biostatistical Analysis*, 4<sup>th</sup> edition, ed. Prentice-Hall, Inc., New Jersey, USA.

Primljeno: 12.05.2005.

Odobreno: 18. 05.2006.

\* \*  
\*

## Correlation of Genetic Distance of Maize Inbred Lines (*Zea mays* L.) with Heterosis and SCA for Grain Yield

- Original scientific paper -

Jelena SRDIĆ, Snežana DRINIĆ-MLADENOVIĆ and Zorica PAJIĆ  
Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade-Zemun

### Summary

The results of protein analysis method and diallel analysis (10x10) were correlated in this study. The diallel analysis was used for the estimation of SCA and heterosis of 45 crosses.

The protein analysis consisted of the salt soluble protein analysis. Proteins were isolated from embryos of ten maize inbred lines. On the basis of electrophoresis, the genetic distance (GD) between 10 inbred lines was estimated. The estimated genetic distances were in accordance with the data related to the origin of inbreds. The shortest GD was detected among inbreds belonging to the same heterotic group and having a common male component. The longest distance was established between two pairs of inbreds originated from divergent heterotic groups.

The classification of inbreds into heterotic groups was confirmed by the cluster and PC analyses based on protein markers. This was also in accordance with the cluster based on data of heterosis and SCA for maize grain yield. Both clusters showed the classification of inbreds into two groups. The first group was formed by inbred lines originated from the BSSS heterotic group, while the other consisted of lines belonging to the Lancaster heterotic group. The deviations were established among inbreds that belonged to neither of these two groups. The results of PCA were in general in accordance with clusters.

The concurrence between GD and heterosis, as well as, between GD and SCA for maize grain yield was established by a Spearman's rank correlation coefficient. In such a way, the accuracy of the classification of inbreds into heterotic groups on the basis of GD results was tested. A stronger and highly significant correlation was established between GD and heterosis ( $r_s=0,422^{**}$ ), while it was significant ( $r_s=0,309^*$ ) for the GD-SCA relation.

Received: 12/05/2005

Accepted: 18/05/2006

*Adresa autora:*

Jelena SRDIĆ

Institut za kukuruz "Zemun Polje"

Slobodana Bajića 1

11185 Beograd- Zemun

Srbija

E-mail: jsrdic@mrizp.co.yu

30

*J. Sci. Agric. Research/Arh. poljopr. nauke* 67, 238 (2006/2), 21-30