

Alina Liersch, Wiesława Popławska, Maria Ogrodowczyk, Krystyna Krótka,
Iwona Bartkowiak-Broda, Jan Bocianowski*

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB, Oddział w Poznaniu

* Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych

Oszacowanie dystansu genetycznego linii rodzicielskich mieszańców F_1 rzepaku ozimego oraz określenie związku z dystansem fenotypowym i efektem heterozji*

Assessment of genetic distance of parental lines of F_1 hybrids
of winter oilseed rape and its relationship with phenotypic distance
and heterosis effect

Słowa kluczowe: rzepak ozimy, mieszańce F_1 , CMS *ogura*, dystans fenotypowy i genetyczny, markery molekularne, plon nasion, efekt heterozji, korelacje

Skuteczna selekcja form rodzicielskich jest czynnikiem decydującym o postępie w hodowli odmian mieszańcowych. W wyborze form rodzicielskich pomaga znajomość ogólnej (OZK) i specyficznej (SZK) zdolności kombinacyjnej, a większy efekt heterozji teoretycznie uzyskuje się w przypadku krzyżowania linii o dużym dystansie genetycznym (DG). Jednak w wyniku badań przeprowadzonych na różnym materiale roślinnym przez różnych autorów uzyskano zróżnicowane wyniki. Dlatego w Pracowni Heterozji IHAR również prowadzone są badania nad związkiem dystansu genetycznego i fenotypowego z poziomem plonowania mieszańców F_1 i efektem heterozji.

Mieszańce F_1 CMS *ogura* i ich linie rodzicielskie przebadano w doświadczeniach polowych założonych w układzie bloków kompletnie zrandomizowanych w czterech powtórzeniach w czterech środowiskach, w sezonach wegetacyjnych 2006/2007, 2007/2008 i 2008/2009. Przeprowadzono analizę statystyczną dla plonu i efektu heterozji badanych obiektów. Ponadto oceniono dystans fenotypowy między liniami rodzicielskimi przyjmując za miarę odległość Mahalanobisa. Dystans genetyczny tych linii określono na podstawie polimorfizmu DNA zbadanego metodami PCR, RAPD i AFLP według wzoru Nei i Li (1979). Związek pomiędzy plonem, efektem heterozji, dystansem genetycznym i fenotypowym oszacowano za pomocą współczynnika korelacji.

Stwierdzono, że dla badanych materiałów hodowlanych plon nasion oraz efekt heterozji mieszańców nie wykazywał statystycznie istotnej korelacji z dystansem genetycznym i fenotypowym co prawdopodobnie było związane z niskim dystansem genetycznym użytych w badaniach linii restorerów — podwojonych haploidów otrzymanych z jednego genotypu BO 20/48.

* Badania zostały częściowo sfinansowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi w ramach realizacji programu „Postęp Biologiczny w produkcji roślinnej” 4-2-01-1-02.

Key words: oilseed rape (*Brassica napus* L.), F₁ hybrids, CMS *ogura*, phenotypic and genetic distance, molecular markers, seed yield, heterosis effect, correlations

Selection of parental lines is a very important step of hybrid breeding programmes. Knowledge of the general (GCA) and specific (SCA) combining ability is helpful in the selection of parental genotypes and theoretically greater heterosis effect is achieved by the crossings of lines with significant genetic distance (GD). However, variable results have been obtained by many authors in the studies conducted on different plant materials.

Taking this into account, in Heterosis Laboratory investigations of the relationship between genetic and phenotypic distance of parental lines of F₁ hybrids, heterosis effect and yielding ability have been initiated.

F₁ hybrids and their parental lines were investigated in field trials in the design of completely randomized blocs, in four replications, four environments, in crop seasons of 2006/2007, 2007/2008 and 2008/2009. Statistical analysis of seed yield and heterosis effects in all environments has been performed. Moreover the phenotypic distance between parental lines of F₁ hybrids using Mahalanobis distance has been evaluated. Genetic distance between parental lines of F₁ hybrids has been investigated using PCR, RAPD and AFLP methods and calculated according to the formula given by Nei and Li (1979). The relationship between seed yield, heterosis, phenotypic and genetic distance has been established by correlation coefficient.

It has been stated that the yield of investigated hybrids as well as heterosis effect are not significantly correlated with GD and PD for all investigated breeding materials. Probably it is due to low genetic distance of restorer lines used in investigations, being doubled haploids developed from one genotype BO 20/48.

Wstęp

Znajomość ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej pomaga w wyborze linii rodzicielskich do tworzenia wysokoplennych mieszańców pokolenia F₁. Także wiele badań wykazało, że im większe jest zróżnicowanie genetyczne linii rodzicielskich tym większy występuje efekt heterozji i w wyniku krzyżowania zróżnicowanych genetycznie linii z większą częstotliwością uzyskuje się plenne mieszańce (Lefort-Buson i in. 1987, Burton i in. 2004, Li i in. 2006, Liersch 2005, Gehringer i in. 2007, Hu i in. 2007, Kramer i in. 2009). Dlatego w ostatnich latach powstała koncepcja tworzenia dla potrzeb hodowli odrębnych pul genetycznych na bazie polimorfizmu DNA materiałów hodowlanych (Becker i Link 2000, Frauen 2000, Snowdon i Friedt 2004).

Zmienność genetyczna lub fenotypowa może być szacowana poprzez badanie genotypu na podstawie obserwacji uzyskanych poprzez przewidywanie (*a priori*) lub na podstawie obserwacji i badań (*a posteriori*). W pierwszej metodzie wykorzystuje się znajomość takich danych jak genealogia danego obiektu oraz informacja o pochodzeniu geograficznym. Zmienność genetyczna jest tym większa im bardziej różnorodnie były środowiska, w których prowadzono selekcję. Druga metoda opiera się na obserwacjach i badaniach fenotypu oraz wynikach badań molekularnych, które następnie analizuje się metodami matematyczno-statystycznymi.

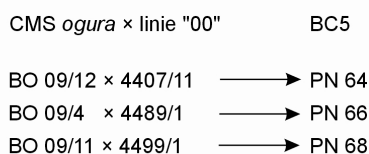
Szacowanie zmienności genetycznej na podstawie zmienności fenotypowej wymaga wieloletnich obserwacji w kilku środowiskach. Rozwój genetyki molekularnej i metod badania genotypu na poziomie DNA dał możliwość szybkiej oceny zmienności genetycznej niezależnie od modyfikującego wpływu środowiska.

Celem tej pracy jak i podobnych prowadzonych przez zespół w Oddziale IHAR w Poznaniu na różnych genotypach rzepaku ozimego jest badanie związku dystansu genetycznego i fenotypowego ze zdolnością kombinacyjną, plonem mieszańców F_1 oraz wielkością efektu heterozji dla opracowania praktycznych narzędzi pozwalających na optymalne wykorzystanie efektu heterozji w hodowli rzepaku oraz weryfikacji koncepcji przydatności grup heterotycznych do hodowli odmian mieszańcowych rzepaku.

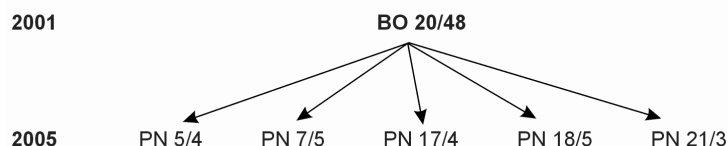
Material i metody

Material do badań stanowiło 15 mieszańców F_1 oraz ich linie rodzicielskie (trzy linie męskosterylne CMS *ogura*: PN 64/07, PN 66/07, PN 68/07 i pięć linii restorerów — podwojonych haploidów (DH): PN 5/4/07, PN 7/5/07, PN 17/5/07, PN 18/5/07, PN 21/3/07). Pochodzenie linii męskosterylnych i linii restorerów przedstawiono na rysunku 1. Linie dopełniające 4407/11, 4489/1 i 4499/1 były liniami rzepaku ozimego podwójnie ulepszanego o niskiej zawartości glukozyolanów (poniżej $7,0 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ nasion) pochodzące z Pracowni Genetyki i Hodowli Jakościowej IHAR. Plon mieszańców i ich linii rodzicielskich oceniono w czterech środowiskach, w sezonach wegetacyjnych 2006/07 (w Borowie), 2007/08 (w Łagiewnikach i Zielęcinie) i 2008/09 (w Małyszynie). Za miarę dystansu fenotypowego

Pochodzenie linii CMS *ogura* — Pedigree of CMS *ogura* lines



Pochodzenie linii restorerów — Pedigree of restorer lines



Rys. 1. Pochodzenie linii rodzicielskich mieszańców F_1 — Pedigree of the parental lines of F_1 hybrids

przyjęto odległość Mahalanobisa wyliczoną dla plonu nasion, pięciu cech struktury plonu: liczby rozgałęzień na roślinie, liczby łuszczyń na roślinie, długości łuszczyń, liczby nasion w łuszczyńce i masy 1000 nasion oraz dwóch cech jakościowych — zawartości tłuszczu w nasionach i sumy glukozydów. Opis doświadczeń polowych w sezonie wegetacyjnym 2007/08 i 2008/09 z tymi materiałami, wykonanych obserwacji, analiz chemicznych oraz obliczeń statystycznych zamieszczono w publikacji Popławska i in. (2010). Doświadczenie polowe w sezonie 2006/07 zostało założone i przeprowadzone również zgodnie z opisem zamieszczonym w publikacji Popławska i in. (2010).

Dla określenia dystansu genetycznego linii rodzicielskich mieszańców wykonano badania polimorfizmu DNA za pomocą markerów RAPD i AFLP.

Całkowite DNA wyizolowano z liści siedmiodniowych siewek rzepaku według metody Doyle i Doyle (1990). Polimorfizm genomowego DNA określono stosując: 54 startery RAPD firmy Operon Technologies (Alameda, USA) zgodnie z metodyką opisaną przez Williams'a i in. (1990) [OPA-01, OPA-07, OPA-08, OPA-09, OPA-11, OPA-15, OPA-16, OPA-18, OPC-02, OPC-04, OPC-09, OPC-18, OPD-08, OPF-01, OPF-04, OPF-06, OPF-09, OPG-03, OPG-04, OPG-05, OPG-11, OPG-13, OPG-14, OPG-15, OPJ-07, OPK-08, OPL-12, OPN-01, OPN-07, OPN-13, OPN-18, OPN-20, OPP-03, OPP-05, OPP-07, OPP-08, OPP-09, OPP-11, OPP-14, OPW-02, OPW-05, OPW-08, OPW-09, OPW-11, OPW-13, OPW-15, OPW-19, OPY-01, OPY-02, OPY-04, OPY-05, OPY-10, OPY-13, OPY-15]. Analizę metodą AFLP wykonano przy użyciu 10 kombinacji starterów AFLP (Gibco BRL Primer Kit) złożonych z dwóch starterów opartych na enzymach restrykcyjnych *EcoRI* (starter: E) i *MseI* (starter: M) według metody opracowanej przez Vos'a i in. (1995) [E3/M3 — E-ACC:M-CAG, E3/M6 — E-ACC:M-CTC, E4/M4 — E-ACT:M-CAT, E4/M7 — E-ACT:M-CTT, E5/M2 — E-AGG:M-CAC, E5/M3 — E-AGG:M-CAG, E5/M4 — E-AGG:M-CAT, E5/M5 — E-AGG:M-CTA, E5/M6 — E-AGG:M-CTC]. Metodykę badań molekularnych metodami RAPD i AFLP oraz określenie na ich podstawie dystansu genetycznego opisano szczegółowo w publikacji Liersch i in. (2010).

Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu programów *Sergen*, *Statistica* i arkusz kalkulacyjny *Excel*, określając ogólną i specyficzną zdolność kombinacyjną oraz macierz korelacji pomiędzy badanymi cechami. Dystans genetyczny obliczono programem *Genstat* stosując współczynniki dystansu Nei i Li (1979).

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 przedstawiono wyniki plonu nasion badanych mieszańców, efektu heterozji oraz ogólnej i specyficznej zdolności kombinacyjnej. Badane mieszańce F_1 plonowały o 12,9 dt/ha wyżej w porównaniu do średniego plonu nasion linii rodzicielskich oraz o 12,1 dt/ha w odniesieniu do plonu nasion lepszego z rodziców.

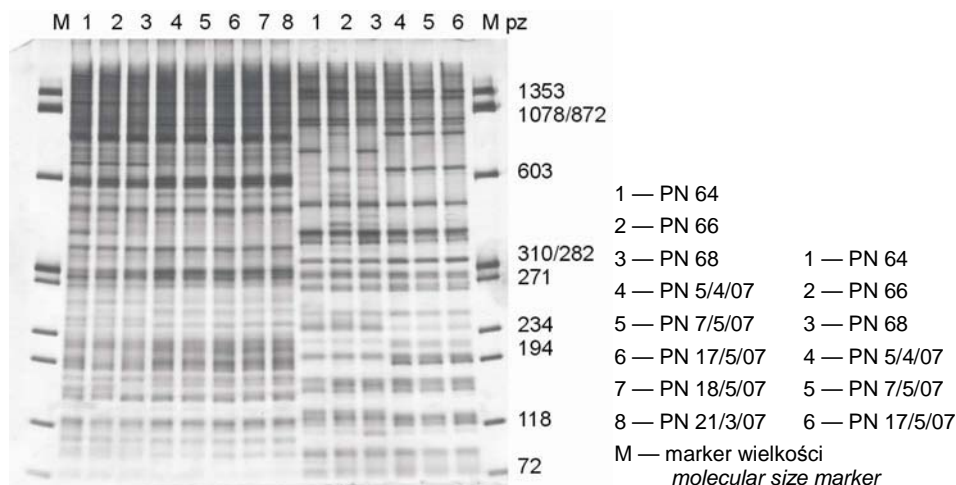
Tabela 1

Charakterystyka mieszańców F₁ na podstawie doświadczenia polowego w czterech środowiskach
Characteristic of F₁ hybrids in field trials in four environments

Mieszaniec F ₁ <i>Hybrid</i>	Płon <i>Seed yield</i> [dt/ha]	Efekt heterozji względem <i>Heterosis in respect to</i> [dt/ha]		Zdolność kombinacyjna <i>Combining ability</i>		Dystans — <i>Distance</i>	
		średniej rodziców <i>mean of the parents</i>	lepszego rodzica <i>mean of the better parent</i>	ogólna <i>general</i>	specyficzna <i>specific</i>	fenotypowy <i>phenotypic</i>	genetyczny <i>genetic</i> RAPD + AFLP
1 PN 64*5/4/07	42,91	9,71	7,85	-0,84	-0,20	12,408	0,7473
2 PN 64*7/5/07	46,68	14,95	14,56	0,05	0,61	14,316	0,7468
3 PN 64*17/5/07	46,95	15,82	15,61	0,89	0,04	6,433	0,7186
4 PN 64*18/5/07	44,48	13,20	13,14	-0,87	-0,67	8,862	0,7191
5 PN 64*21/3/07	46,22	13,49	12,10	-0,03	0,23	22,546	0,7088
6 PN 66*5/4/07	46,58	11,98	11,53	-0,34	0,48	32,003	0,7347
7 PN 66*7/5/07	45,25	12,11	11,09	0,55	-0,71	27,867	0,7384
8 PN 66*17/5/07	46,22	13,68	12,07	1,39	-0,57	26,255	0,7400
9 PN 66*18/5/07	45,35	12,66	11,19	-0,37	0,32	22,255	0,7322
10 PN 66*21/3/07	46,36	12,23	12,21	0,47	0,49	24,865	0,7305
11 PN 68*5/4/07	45,31	11,35	10,25	-0,86	-0,27	23,993	0,6985
12 PN 68*7/5/07	45,55	13,06	12,69	0,03	0,11	17,255	0,7021
13 PN 68*17/5/07	46,82	14,93	13,96	0,87	0,54	17,655	0,6998
14 PN 68*18/5/07	44,87	12,83	12,01	-0,89	0,36	23,101	0,6962
15 PN 68*21/3/07	44,63	11,15	10,52	-0,05	-0,72	28,657	0,6985
Średnia — <i>Mean</i>	45,61	12,88	12,05			20,565	0,7208
Minimum — <i>Minimum</i>	42,91	9,71	7,85			6,433	0,6962
Maksimum — <i>Maximum</i>	46,95	15,82	15,61			32,003	0,7473
Współczynnik zmienności <i>Coefficient of variation</i>	2,42	12,37	15,59			36,46	2,63

Dystans fenotypowy jako miara odległości Mahalanobisa wyznaczono na podstawie ośmiu cech fenotypowych (szczegółowy opis metody podała Popławska i in. 2010) Uzyskano stosunkowo niski dystans fenotypowy linii rodzicielskich badanych mieszańców wynoszący od 6,433 do 32,003, jednakże może on wspomóc dobór możliwie najbardziej zróżnicowanych komponentów do tworzenia mieszańców F_1 (tab. 1) oraz uzupełnić ocenę zmienności genetycznej, której detekcja jest możliwa za pomocą markerów molekularnych.

Dla określenia dystansu genetycznego przebadano linie rodzicielskie mieszańców F_1 za pomocą 54 starterów RAPD, uzyskując 320 różnicujące markery oraz 10 kombinacji starterów AFLP otrzymując 179 polimorficznych fragmentów DNA. Spośród 54 zastosowanych do badań RAPD starterów, 52 różnicowały DNA badanych linii. Liczba polimorficznych markerów dla pojedynczego startera wyniosła od 1 do 16. Najwięcej otrzymano w reakcji ze starterem OPW-09, a jeden starter generował średnio 6 polimorficznych prążków. Dwa startery OPD-08 i OPW015 nie różnicowały badanych linii. W przypadku techniki AFLP wszystkie zastosowane kombinacje starterów wykazały polimorfizm pomiędzy badanymi liniami. Liczba polimorficznych markerów wahała się od 8 [E4/M7 — E-ACT:M-CTT] do 28 [E5/M3 — E-AGG:M-CAG], przy średniej dla jednej kombinacji starterów 17,9. Przykładowy obraz elektroforetyczny pokazuje rysunek 2.



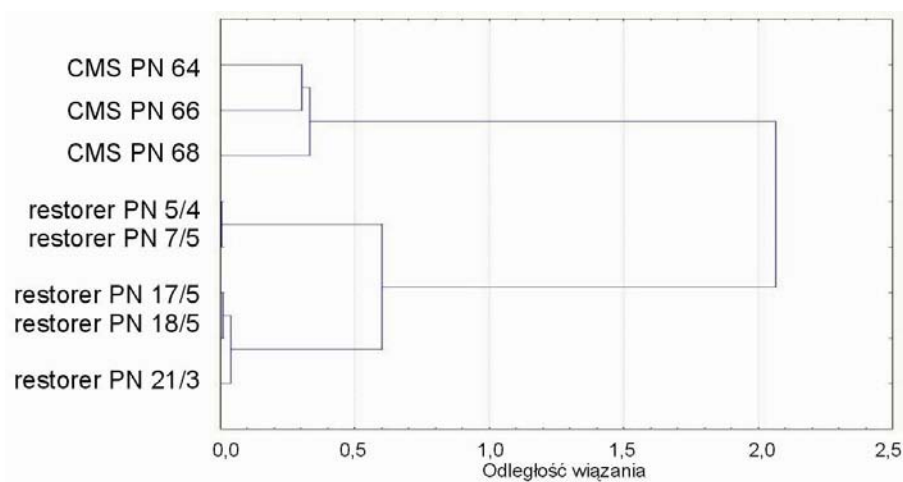
Rys. 2. Wynik analizy AFLP 8 linii rodzicielskich uzyskany dla par starterów E4/M4 – E-ACT:M-CAT i E3/M6 – E-ACC:M-CTC. Linie oznaczone cyframi 1–8 (E4/M4) i 1–6 (E3/M6) są produktami analizy AFLP dla linii rodzicielskich mieszańców F_1 , M – DNA faga $\phi X174$ trawione enzymem *BsuRI* (MBI Fermentas); pz – liczba par zasad — AFLP fingerprints of 8 parental lines obtained with primer combinations E4/M4 – E-ACT:M-CAT and E3/M6 – E-ACC:M-CTC. Lines 1-8 (E4/M4) and 1-6 (E3/M6) are AFLP products of 8 parental lines of F_1 hybrids, M – $\phi X174$ bacteriophage DNA digested with *BsuRI* enzyme (MBI Fermentas); pz – number of base pairs

Tabela 2

Wartości dystansu genetycznego badanych linii rodzicielskich mieszańców F_1
Genetic distance value of investigated parental lines of F_1 hybrids

Linia <i>Lines</i>	Linie CMS — <i>CMS lines</i>			Linie restorery — <i>Restorer lines</i>				
	PN 64	PN 66	PN 68	PN 5/4/07	PN 7/5/07	PN 17/5/07	PN 18/5/07	PN 21/3/07
PN 64	–							
PN 66	0,3036							
PN 68	0,3265	0,3213						
PN 5/4/07	0,7473	0,7347	0,6985					
PN 7/5/07	0,7468	0,7384	0,7021	0,0022				
PN 17/5/07	0,7186	0,7400	0,6998	0,2578	0,2561			
PN 18/5/07	0,7191	0,7322	0,6962	0,2594	0,2578	0,0066		
PN 21/3/07	0,7088	0,7305	0,6985	0,2589	0,2573	0,0311	0,0288	–

Wartości dystansu genetycznego obliczonego na podstawie markerów RAPD i AFLP łącznie dla wszystkich par badanych linii wyniosły od 0,0020 dla linii restorerów PN 5/4/07 i PN 7/5/07 do 0,7473 dla linii CMS PN 64 i linii restorera PN 5/4/07 (tab. 2). Dla par linii CMS *ogura* i linii restorerów dystans genetyczny wyniósł od 0,6962 (linia CMS 68 i linia restorera 18/5/07) do 0,7473 (linia CMS 64 i restorer 5/4/07). Dendrogram utworzony w oparciu o wyniki uzyskane dwoma technikami molekularnymi przyporządkował analizowane linie rodzicielskie mieszańców do dwóch grup skupień: (1) linie CMS *ogura* i (2) linie restorery (rys. 3).



Rys. 3. Dendrogram 8 linii rodzicielskich mieszańców F_1 utworzony w oparciu o markery RAPD i AFLP — *Dendrogram of 8 parental lines of F_1 hybrids based on RAPD and AFLP markers*

W przypadku badanych materiałów hodowlanych stwierdzono tylko istotne korelacje pomiędzy plonem mieszańców oraz heterozją obliczoną względem średniej rodziców, lepszego rodzica, ogólną i specyficzną zdolnością kombinacyjną — odpowiednio 0,77, 0,76, 0,65 oraz 0,76. Natomiast nie wykryto związku plonu ani efektu heterozji z dystansem fenotypowym (wyrażonym odległością Mahalanobisa) i dystansem genetycznym. Wynik taki uzyskano mimo, że zarówno dendrogram utworzony na podstawie odległości Mahalanobisa przedstawiony w pracy Popławska i in. (2010) jak i dendrogram otrzymany na podstawie dystansu genetycznego w tej pracy przyporządkowuje linie CMS i linie restorery do odrębnych grup. Ponadto liczba markerów molekularnych na podstawie których oceniono dystans genetyczny była duża, w sumie otrzymano prawie 500 polimorficznych fragmentów DNA. We wcześniejszych badaniach przeprowadzonych na innym materiale roślinnym, w których potwierdzono związek dystansu genetycznego z efektem heterozji lub plonem nasion, liczba markerów molekularnych użytych do badań była podobna (Liersch 2005, Liersch i Bartkowiak 2007) lub niższa (Liersch i in. 2004, Nowakowska i in. 2005).

Tabela 3

Współczynniki korelacji pomiędzy plonem nasion mieszańców F_1 , efektem heterozji, ogólną i specyficzną zdolnością kombinacyjną, dystansem fenotypowym i genetycznym — *Correlation coefficient between seed yield of F_1 hybrids, heterosis effect, general and specific combining ability, phenotypic and genetic distance*

Cecha — Trait	1	2	3	4	5	6	7
1. Plon nasion — <i>Seed yield</i>	1						
2. Heterozja względem średniej rodziców <i>Heterosis in respect to mean of parents</i>	0,77**	1					
3. Heterozja względem lepszego rodzica <i>Heterosis in respect to mean of the better parent</i>	0,76**	0,96**	1				
4. Ogólna zdolność kombinacyjna <i>General combining ability</i>	0,65**	0,57*	0,49*	1			
5. Specyficzna zdolność kombinacyjna <i>Specific combining ability</i>	0,76**	0,52*	0,59*	0,00	1		
6. Dystans fenotypowy <i>Phenotypic distance</i>	0,10	-0,43	-0,43	0,07	0,07	1	
7. Dystans genetyczny (RAPD + AFLP) <i>Genetic distance</i>	-0,02	-0,09	-0,13	0,18	-0,18	-0,05	1

* istotne na poziomie $\alpha = 0,05$ — *significant at $\alpha = 0.05$*

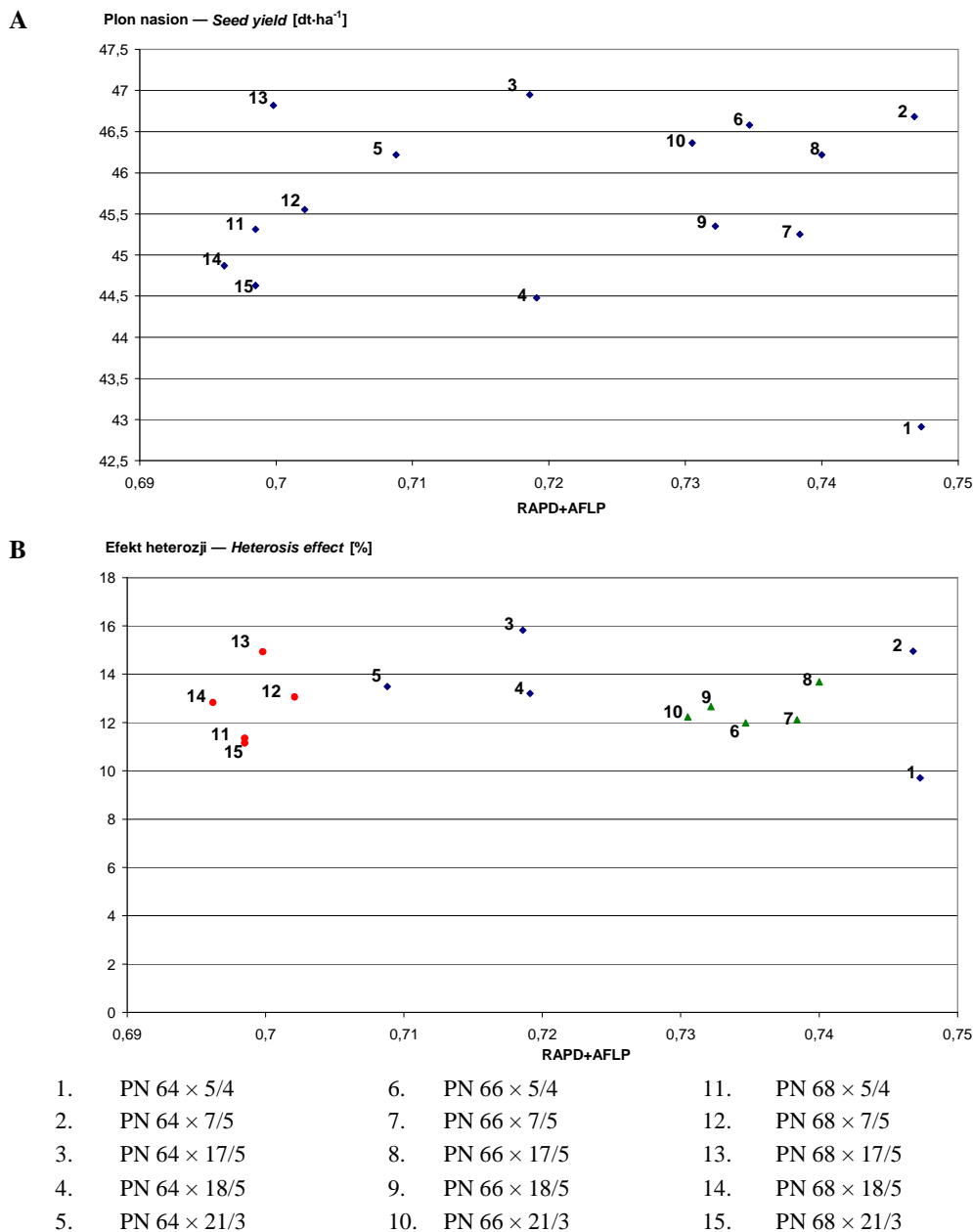
** istotne na poziomie $\alpha = 0,01$ — *significant at $\alpha = 0.01$*

Mimo użytej dużej liczby markerów RAPD i AFLP dla badanych genotypów nie stwierdzono związku dystansu genetycznego z plonem i efektem heterozji. Wskazuje to, że markery dominujące RAPD i AFLP nie dla każdego materiału są wystarczające do oceny dystansu genetycznego, tak aby ten mógł być podstawą do

wyboru najlepszych komponentów mieszańców szczególnie w przypadku, zarówno gdy pula linii męskosterylnych CMS *ogura* jak i linii restorerów mają zbliżone pochodzenie. Plieske i Struss (2001) wskazują na możliwość podniesienia skuteczności analiz zróżnicowania genetycznego, a tym samym efektywności przewidywania heterozji mieszańców F_1 u *Brassica* stosując najnowsze metody molekularne, między innymi kodominujące markery mikrosatelitarne czy SNP.

Badania nad związkiem dystansu genetycznego z plonem nasion i efektem heterozji prowadzili między innymi Zhang i in. (1996) dla ryżu, Betrán i in. (2003) dla kukurydzy, Corbellini i in. (2002) dla pszenicy czy Teklewold i Becker (2006) dla gorczycy abisyńskiej uzyskując zróżnicowane wyniki. U kukurydzy Betrán i in. (2003) wykazali dodatnią korelację efektu heterozji w plonie nasion z dystansem genetycznym form rodzicielskich, podobnie jak Lanza i in. (1997), którzy potwierdzili korelację plonu nasion z dystansem genetycznym ocenionym w oparciu o markery RAPD. Ali i in. (1995) ocenili cechy morfologiczne 30 linii i odmian rzepaku ozimego, które posłużyły następnie do wyznaczenia dystansu genetycznego stosując odległość Euklidesową. Autorzy uzyskali pozytywną korelację pomiędzy wartością dystansu genetycznego z plonem nasion i efektem heterozji jak również z liczbą łuszczyń i liczbą nasion w łuszczyńce. Podobnie Diers i in. (1996) oraz Riaz i in. (2001) w badaniach nad rzepakiem wskazują na przydatność zmienności genetycznej określonej za pomocą markerów molekularnych w przewidywaniu efektu heterozji w plonie nasion mieszańców. Odmienne rezultaty uzyskali Yu i in. (2005) u rzepaku i Jain i in. (1994) dla gorczycy sarepskiej. Autorzy stwierdzili niski związek markerów DNA z heterozją. Teklewold i Becker (2006) podkreślają, że dystans genetyczny otrzymany na podstawie markerów molekularnych nie jest wystarczający do prawidłowego przewidywania plenności i efektu heterozji mieszańców gorczycy abisyńskiej. Jednocześnie wykazali, że dystans wyznaczony na podstawie cech fenotypowych pozwolił na prawidłowe oszacowanie heterozji mieszańców F_1 , ogólnej zdolności kombinacyjnej rodziców dla plonu nasion i innych ważnych cech agronomicznych. Melchinger (1999) podkreślił, że zależność pomiędzy dystansem genetycznym form rodzicielskich a heterozją względem średniej rodziców maleje w przypadku krzyżowania linii należących do tej samej grupy lub do zbyt odległych pul genetycznych. Corbellini i in. (2002), Yu i in. (2005), Radoev i in. (2008) oraz Kramer i in. (2009) uważają, że plon nasion i heterozję będzie można łatwiej przewidzieć stosując markery sprzężone z interesującymi hodowcą *loci* cech ilościowych (QTL).

Na rysunku 4 przedstawiono zależności pomiędzy plonem nasion (4A) i wielkością efektu heterozji w plonie nasion (4B) a dystansem genetycznym. W obu przypadkach nie stwierdzono liniowej zależności. Mieszańce F_1 , których formą mateczną były linie CMS *ogura* 66 i 68 grupowały się razem na wykresie oraz charakteryzowały się zbliżonymi wartościami dystansu genetycznego niezależnie od linii restorera zastosowanej do tworzenia mieszańca. Natomiast kombinacje mieszańcowe utworzone na bazie linii CMS 64 były bardziej rozproszone.



Rys. 3. Zależność pomiędzy dystansem genetycznym linii rodzicielskich mieszańców F₁ określonymi markerami RAPD i AFLP a plonem nasion (A) i efektem heterozji (B) — Relationship between genetic distance of parental lines of hybrid estimated by RAPD and AFLP markers and seed yield (A) and heterosis effect (B)

Podsumowanie

Przeprowadzone badania nie potwierdziły związku dystansu fenotypowego i genetycznego z wielkością plonu i efektem heterozji, mimo dużej liczby wygenerowanych polimorficznych produktów amplifikacji. Prawdopodobnie badane populacje były zbyt małe i zbyt mało zróżnicowane. Linie podwojonych haploidów z genem restorerem użyte jako formy ojcowskie do tworzenia mieszańców F₁ rzepaku ozimego charakteryzowały się niskim dystansem genetycznym ponieważ zostały wyprowadzone z jednego genotypu — linii wsobnej BO 20/48.

Literatura

- Ali M., Copeland L.O., Elias S.G., Kelly J.D. 1995. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in winter canola (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 91: 118-121.
- Becker H., Link W. 2000. Heterosis in hybrid breeding. MCC-2000, Mendel Centenary Congress, 7-10 March, Brno, Czech Republic: 319-327.
- Betrán F.J., Ribaut J.M., Beck D., Gonzalez de León D. 2003. Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. *Crop Sci.*, 43: 797-806.
- Burton W.A., Ripley V.I., Potas D.A., Salisbury P.A. 2004. Assessment of genetic diversity in selected breeding lines and cultivars of canola quality *Brassica juncea* and their implications for canola breeding. *Euphytica*, 136: 181-192.
- Corbellini M., Perenzin M., Accerbi M., Vaccino P., Borghi B. 2002. Genetic diversity in bread wheat, as revealed by coefficient of parentage and molecular markers, and its relationship to hybrid performance. *Euphytica*, 123: 273-285.
- Diers B.W., Mc Vetty P.B.E., Osborn T.C. 1996. Relationship between heterosis and genetic distance based on restriction fragment length polymorphism markers in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Crop Sci.*, 36: 79-83.
- Doyle J. J., Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Falconer D.S. 1974. *Dziedziczenie cech ilościowych*. PWN, Warszawa, 183-203.
- Frauen M. 2000. Potentials and limitations of Mendelian genetics for plant breeding – Rapeseed as an example. MCC₂₀₀₀, Mendel Centenary Congress, 7-10 March 2000, Brno, Czech Republic: 338-340.
- Gehringer A., Snowdon R., Spiller T., Basunanda P., Friedt W. 2007. New oilseed rape (*Brassica napus*) hybrids with high levels of heterosis for seed yield under nutrient-poor conditions. *Breeding Science* 57: 315-320.
- Hu S., Yu C., Zhao H., Sun G., Zhao S., Vyvadilova M., Kucera V. 2007. Genetic diversity of *Brassica napus* L. germplasm from China and Europe assessed by some agronomically important characters. *Euphytica*, 154: 9-16.
- Jain A., Bhatia S., Banga S.S., Prakash S., Lakshmikumaran M. 1994. Potential use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) technique to study the genetic diversity in Indian mustard (*Brassica juncea*) and its relationship to heterosis. *Theor. Appl. Genet.*, 88: 123-128.

- Kramer C.C., Polewicz H., Osborn T.C. 2009. Evaluation of QTL alleles from exotic sources for hybrid seed yield in the original and different genetic backgrounds of spring-type *Brassica napus* L. *Mol. Breeding* 24: 419-431.
- Lanza L.B., de Souza Jr C.L., Ottoboni M.M., Vieira M.L.C., de Souza P. 1997. Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 94: 1023-1030.
- Lefort-Buson M., Guillot-Lemoine B., Dattée Y. 1987. Heterosis and genetic distance in rapeseed (*Brassica napus* L.): crosses between European and Asiatic selfed lines. *Genome* 29: 413-418.
- Li M., Chen X., Meng J. 2006. Intersubgenomic heterosis in rapeseed production with a partial new-types *Brassica napus* containing subgenome A^t from *B. rapa* and C^c from *Brassica carinata*. *Crop. Sci.* 46: 234-242.
- Liersch A. 2005. Wpływ zmienności genetycznej na efekt heterozji u rzepaku ozimego (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). Rozprawa doktorska, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Poznań.
- Liersch A., Bartkowiak-Broda I., Ogrodowczyk M., Krótka K. 2004. Związek pomiędzy heterozją i dystansem genetycznym oceniony na podstawie polimorfizmu markerów RAPD u rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). *Rozprawy i Monografie Instytutu Genetyki Roślin PAN pod redakcją P. Krajewskiego, Z. Zwierzykowskiego i P. Kachlickiego*, ISBN 83-85583-20-3, 11: 261-268.
- Liersch A., Bartkowiak-Broda I. 2007. Relationship of yielding ability and heterosis effect of winter rapeseed F₁ hybrids with genetic distance of parental lines. In: *Sustainable Development in Cruciferous Oilseed Crops Production. Proc. 12th Inter. Rapeseed Congress, Wuhan, China, 26-30.03.2007*, t.2: 285-288.
- Liersch A., Krótka K., Bartkowiak-Broda I. 2010. Możliwości zastosowania markerów molekularnych w badaniu dystansu genetycznego linii hodowlanych rzepaku ozimego. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXXI (2), 211-228.
- Melchinger A.E. 1999. Genetic diversity and heterosis. In: Coors CG, Pandey S (eds) *genetics and exploitation of heterosis in crops*. American Society of Agronomy, Madison, pp. 99-118.
- Nei M., Li W. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 76: 5256-5273.
- Nowakowska J., Bartkowiak-Broda I., Ogrodowczyk M. 2005. Wstępne badania związku między efektem heterozji mieszańców F₁ rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.) a dystansem genetycznym linii rodzicielskich. *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXVI (1): 19-33.
- Plieske J., Struss D. 2001. Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. I. Development and abundance in *Brassica* species. *Theor. Appl. Genet.*, 102: 689-694.
- Popławska W., Ogrodowczyk M., Bartkowiak-Broda I., Krótka K. 2010. Analiza zmienności składników plonu oraz wielkości efektu heterozji u mieszańców F₁ rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). *Rośliny Oleiste – Oilseed Crops*, XXXI (1): 21-34.
- Radoev M., Becker H. C., Ecke W. 2008. Genetic analysis of heterosis and yield components in rapeseed (*Brassica napus* L.) by quantitative trait locus mapping. *Genetics* 179: 1547-1558.
- Riaz A., Li G., Queresh Z., Swati M.S., Qiuros C.F. 2001. Genetic diversity of oilseed *Brassica napus* inbred lines based on sequence-related amplified polymorphism and its relation to hybrid performance. *Plant Breeding*, 120: 411-415.
- Snowdon R.J., Friedt W. 2004. Molecular markers in *Brassica* oilseed breeding: current status and future possibilities. *Plant Breeding*, 123: 1-8.

- Teklewold A., Becker H.C. 2006. Comparison of phenotypic and molecular distances to predict heterosis and F_1 performance in Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun). *Theor. Appl. Genet.*, 112: 752-759.
- Vos P., Hogers R., Sleeker M., Reijans M., Lee T., Homes M., Freiters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: a new concept for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.*, 23: 4404-4414.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acids Res.* 18: 6531 — 6535.
- Yu C.Y., Hu S.W., Zhao H.X., Guo A.G., Sun G.L. 2005. Genetic distance revealed by morphological characters, isozymes, proteins and RAPD markers and their relationships with hybrid performance in oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 110: 511-518.
- Zhang Q., Zhou Z.Q., Yang G.P., Xu C.G., Liu K.D., Saghai Maroof M.A. 1996. Molecular marker heterozygosity and hybrid performance in indica and japonica rice. *Theor. Appl. Genet.*, 93: 1218-1224.