

ZALEŻNOŚĆ MIĘDZY HETEROZJĄ MIESZAŃCÓW F₁ MARCHWI A DYSTANSEM GENETYCZNYM ICH LINII RODZICIELSKICH

Barbara Jagosz

Katedra Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa,
Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wstęp

Hodowla heterozyjna marchwi opiera się na wykorzystaniu linii wsobnych o dobrej zdolności kombinacyjnej. Ich otrzymanie jest bardzo pracochłonne i długotrwałe, dlatego też od szeregu lat poszukiwane są sposoby pozwalające przewidzieć wysokość heterozji potomstwa F₁. Jednakże do tej pory nie udało się znaleźć szybkiej i skutecznej metody doboru form wyjściowych dla tworzenia nowych mieszańców. Dotychczasowe obserwacje sugerują, że efekt heterozji pokolenia F₁ jest tym wyższy, im większe zróżnicowanie alleli form wyjściowych. Zróżnicowanie takie występuje wtedy, gdy krzyżowane genotypy są słabo spokrewnione ze sobą, czyli gdy odległości genetyczne między nimi są stosunkowo duże. Zatem potomstwo linii rodzicielskich o dużym oddaleniu genetycznym powinno wykazywać znaczący efekt heterozji.

Celem pracy było określenie zależności między efektem heterozji w pokoleniu F₁ a dystansem genetycznym dzielącym ich formy rodzicielskie.

Materiał i metody

Badaniami objęto 15 linii hodowlanych marchwi, a w tym 7 linii męskosterylnych – A i 6 właściwych dla nich linii dopełniających – B oraz dwie linie – C – użyte wyłącznie jako ojcowskie linie zapylające. W wyniku krzyżowań diallelicznych, wykonanych zgodnie z pierwszą metodą krzyżowań GRIFFINGA [1956], otrzymano 34 mieszańce F₁, które oceniano w doświadczeniach założonych w układzie kraty kwadratowej w czterech powtórzeniach. Badania prowadzono w latach 1998 i 1999 na terenie gospodarstwa RZD w Prusach koło Krakowa, na czarnoziemnie zdegradowanym, wytworzonym na lessie. Uprawę roślin prowadzono na redlinach zgodnie z zaleceniami agrotechnicznymi dla marchwi.

Podczas zbioru korzenie marchwi sortowano na frakcję handlową i niehandlową, po czym ustalono ich masę, a otrzymane wyniki stanowiły podstawę do określenia plenności porównywanych obiektów. Wielkości plonu w kg przeliczano na poletko o powierzchni 10 m², co odpowiada dt·ha⁻¹.

W korzeniach handlowych określano zawartości barwników karotenowych metodą kolorymetryczną (PN-90/75101/12), suchej masy metodą wagową, sumy

cukrów oraz cukrów redukujących metodą Somogyi-Nelsona (PN-90/75101/07).

Analizy markerów molekularnych przeprowadzono w oparciu o DNA komórkowe wyizolowane niezależnie z 18 młodych roślin marchwi, dla każdego z genotypów. Ocena molekularna przeprowadzona została za pomocą metody RAPD i AFLP, a w oparciu o współczynnik Jaccarda wyznaczono odległości genetyczne badanych obiektów [ARMSTRONG i in. 1994]. W oparciu o oszacowane liczbowo dystansy genetyczne skonstruowano dwa dendrogramy, za pomocą programu komputerowego „TREEVIEW” [PAGE 1996].

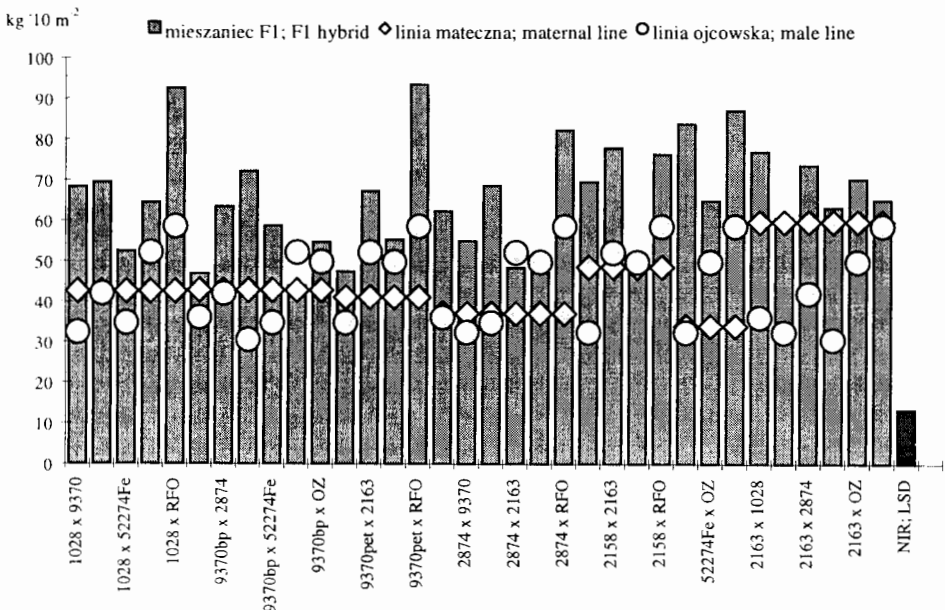
Wyniki dotyczące plenności i składu chemicznego korzeni marchwi poddano analizie zmienności i określono najmniejszą istotną różnicę (NIR).

Effekt heterozji mieszańców F_1 pod względem analizowanych cech, wyrażono w procentowych wartościach, w stosunku do lepszej z linii rodzicielskich.

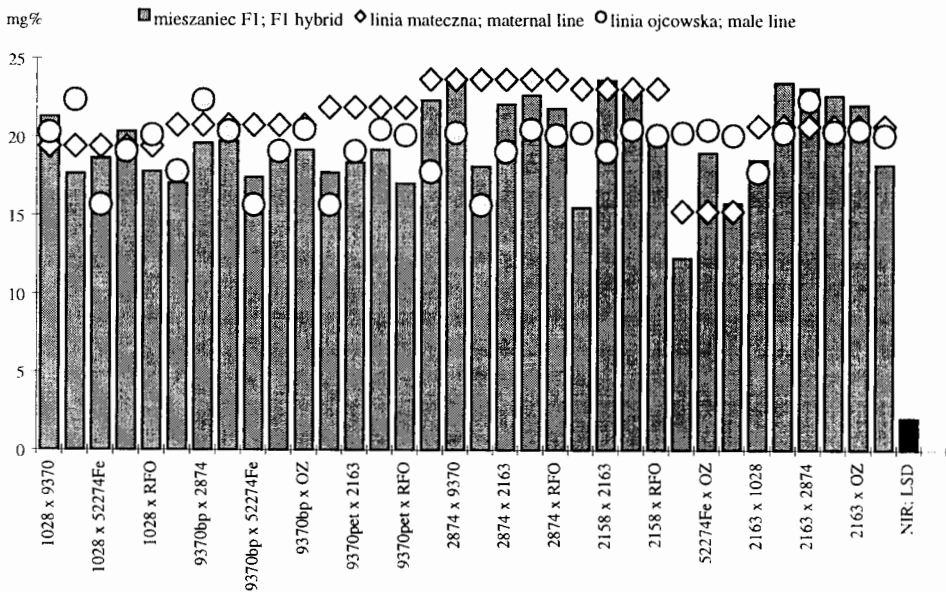
Współczynnik korelacji określono pomiędzy dystansem genetycznym dla linii rodzicielskich tworzących kombinacje F_1 a efektem heterozji badanych mieszańców pod względem plonu oraz zawartości karotenów, suchej masy i cukrów w korzeniach spichrzowych marchwi.

Wyniki i dyskusja

Wyraźny dodatni efekt heterozji pod względem plonu ogólnego wystąpił aż u 59% badanych mieszańców marchwi, a w plonie handlowym – u 38% obiektów pokolenia F_1 . Natomiast zawartość składników odżywczych w korzeniach mieszańców F_1 była przeważnie podobna lub niższa w stosunku do ich linii rodzicielskich. Effekt heterozji wystąpił jedynie pod względem poziomu karotenów (u 3% mieszańców) oraz zawartości cukrów prostych (u 6% mieszańców), rys. 1, 2.



Rys. 1. Plon ogólny mieszańców F_1 i linii rodzicielskich marchwi
Fig. 1. Total yield of the F_1 hybrids and parental lines of the carrot



Rys. 2. Zawartość karotenów w mieszańcach F₁ i liniach rodzicielskich marchwi
 Fig. 2. Content of the carotene in F₁ hybrids and the parental lines

Przeprowadzone badania molekularne wykonano w oparciu o techniki RAPD i AFLP. Za pomocą dwunastu starterów zidentyfikowano 86 markerów RAPD, w czym aż 75,6% stanowiły polimorficzne produkty amplifikacji. Analiza markerów AFLP przeprowadzona za pomocą 9 kombinacji starterów, pozwoliła na zidentyfikowanie 235 markerów, spośród których 73,6% stanowiły polimorficzne fragmenty DNA. Wysoki procent polimorficznych produktów amplifikacji, uzyskany zarówno dla markerów AFLP, jak i RAPD, pozwolił na dokładne określenie dystansu genetycznego, a więc na określenie zróżnicowania pomiędzy badanymi genotypami marchwi.

Docelowym etapem analiz było skorelowanie średnich odległości genetycznych pomiędzy liniami rodzicielskimi z wartościami heterozji pod względem plonu oraz zawartości składników chemicznych w korzeniach pokolenia F₁. Należy bowiem przypuszczać, że duży dystans genetyczny między liniami rodzicielskimi, a więc ich duże zróżnicowanie, powinno świadczyć o dobrej zdolności kombinacyjnej, co z kolei pozytywnie wpływałoby na efekt heterozji.

Wartości współczynników korelacji między dystansem genetycznym dla linii rodzicielskich, obliczonym w oparciu o markery molekularne, a stwierdzoną heterozją u badanych mieszańców były stosunkowo niskie (tab. 1). Dodatkowo istotne wartości współczynnika korelacji, wynoszące $r = 0,42^*$, wystąpiły między zwyżką plonu ogólnego u mieszańców F₁ a średnim dystansem genetycznym ich linii rodzicielskich, obliczonym na podstawie markerów RAPD. Natomiast w przypadku plonu handlowego dodatnią zależność, wynoszącą $r = 0,34^*$, stwierdzono przy porównaniu heterozji mieszańców z dystansem genetycznym form rodzicielskich wyznaczonym na podstawie markerów AFLP. Pozwala to stwierdzić, że wraz ze

wzrostem zróżnicowania genetycznego pomiędzy liniami rodzicielskimi wzrasta wartość efektu heterozji. Nie stwierdzono natomiast zależności pomiędzy składem chemicznym korzeni pokolenia F_1 a odległościami genetycznymi linii rodzicielskich. Wartości obliczonych współczynników były nieistotne, ujemne lub bliskie zera.

Tabela 1; Table 1

Wartości współczynnika korelacji między efektem heterozji mieszańców F_1 a dystansem genetycznym ich linii rodzicielskich

Correlation coefficients between heterosis effect of the F_1 hybrids and the genetic distance of their parental lines

	Dystans RAPD Distance RAPD							
Dystans RAPD Distance RAPD	1,00	Dystans AFLP Distance AFLP						
Dystans AFLP Distance AFLP	0,55*	1,00	Plon ogólny Total yield					
Plon ogólny Total yield	0,42*	0,23	1,00	Plon handlowy Market yield				
Plon handlowy Market yield	0,25	0,34*	0,76*	1,00	Karoten Carotene			
Karoten Carotene	-0,17	0,00	-0,51*	-0,41	1,00	Sucha masa Dry matter		
Sucha masa Dry matter	-0,28	-0,19	-0,55*	-0,45*	0,58*	1,00	Suma cukrów Total sugar	
Suma cukrów Total sugar	-0,25	-0,02	-0,43*	-0,25	0,46*	0,72*	1,00	Cukry proste Monosacharides
Cukry proste Monosacharides	0,13	0,20	-0,13	-0,04	0,03	-0,03	0,17	1,00

* – korelacja istotna dla $p = 0,05$; significant correlation for $p = 0.05$

Oszacowano również zależności pomiędzy plonem i składem chemicznym mieszańców F_1 . Wysokie wartości współczynników korelacji stwierdzono między plonem handlowym i plonem ogólnym ($r = 0,76^*$). Wykazano, że wraz ze wzrostem plonu korzeni obniża się w nich zawartość karotenów, suchej masy i cukrów, o czym świadczą ujemne wartości współczynnika korelacji. Stwierdzono też znaczącą zależność pomiędzy zawartością karotenów a poziomem suchej masy ($r = 0,58^*$) oraz sumą cukrów ($r = 0,46^*$). Istotnie statystycznie były również współczynniki korelacji dla suchej masy i sumy cukrów ($r = 0,72^*$). Wynika z tego, że wraz ze wzrostem zawartości suchej masy rośnie poziom cukrów i karotenów. Nie zaobserwowano zależności pomiędzy poziomem cukrów prostych a pozostałymi cechami.

Poglądy dotyczące stopnia korelacji efektu heterozji pokolenia F_1 z odległościami genetycznymi pomiędzy liniami hodowlanymi są podzielone. TERSAC i in. [1994] nie znaleźli zależności pomiędzy wymienionymi wyżej cechami u słonecznika. Natomiast SMITH i in. [1990] donosili o silnej korelacji pomiędzy pleninością kukurydzy a dystansem genetycznym pomiędzy liniami hodowlanymi.

Otrzymane w pracy wyniki są zgodne z obserwacjami opublikowanymi przez takich autorów jak: LEE i in. [1989], GODSHALK i in. [1990], MELCHINGER i in. [1990], DUDLEY i in. [1991], SMITH i SMITH [1992], którzy również stwierdzili stosunkowo słabą zależność pomiędzy efektem heterozji mieszańców F_1 i dystansem genetycznym linii kukurydzy. Niewielką korelację wykazali także MARTIN i in. [1995]

w badaniach pszenicy, ZHANG i in. [1995] w przypadku ryżu, DIERS i in. [1996] dla rzepaku. Podobnie PARENTONI i in. [2001] otrzymali niski, ale istotny stopień korelacji ($r = 0,16^*$) dla plonu kukurydzy i odległości genetycznych obliczonych na bazie markerów RAPD. Natomiast w badaniach prowadzonych przez CHERESA i in. [2000] wykazano wysoką zależność ($r = 0,63^*$ i $r = 0,79^*$) między plonem słonecznika a dystansem genetycznym obliczonym w oparciu o markery AFLP.

Znajomość dystansu genetycznego może zatem być przydatna przy tworzeniu populacji wyjściowych w procesie hodowlanym [SMITH i in. 1990; CHARCOSSET i in. 1991; DUDLEY i in. 1991; BERNARDO 1992; BECKER, LINK 2000]. Określenie dystansu genetycznego pozwala bowiem na dokonanie wyboru odpowiednich genotypów, które charakteryzują się dużą zmiennością genetyczną pod względem pożądanых cech, dając w ten sposób możliwość zgromadzenia zróżnicowanego genetycznie materiału wyjściowego dla hodowli heterozyjnej.

Wytyczony w niniejszej pracy kierunek badań okazał się słuszny i niewątpliwie zasługuje on na szersze zainteresowanie hodowców. Potwierdzają to istotne wartości korelacji między odległościami genetycznymi linii hodowlanych a cechami plenności, dla których wykazano heterozję prawie u połowy badanych mieszańców F_1 .

Wnioski

1. Obliczenie dystansu genetycznego może być pomocne w doborze odpowiednio zróżnicowanych form wyjściowych dla mieszańców F_1 . Dodatkowo współczynniki korelacji pomiędzy plonem ogólnym korzeni marchwi a dystansem genetycznym sugerują, że efekt heterozji pod względem plonu, można przewidzieć prawie u połowy badanych mieszańców.
2. Efekt heterozji pod względem plonu ogólnego wystąpił u 59%, a plonu handlowego u 38% badanych obiektów pokolenia F_1 .
3. Mieszańce F_1 charakteryzowały się pośrednią w stosunku do form wyjściowych zawartością karotenów, cukrów i suchej masy.
4. Uzyskanie mieszańców F_1 marchwi o równocześnie wysokim plonie i wysokiej wartości odżywczej jest trudne.

Literatura

- ARMSTRONG J.S., GIBBS A.J., PEAKALLE R., WEILLER G. 1994. *The RAPDistance package*. V.1.04.URL [<http://life.anu.edu.au/molecular/software/rapd.html>].
- BECKER H.C., LINK W. 2000. *Heterosis and hybrid breeding*. Vortr. Pflanzenzüchtg. 48: 319–327.
- BERNARDO R. 1992. *Relationship between single-cross performance and molecular markers in maize*. Theoret. Appl. Genet. 85: 1055–1062.
- CHARCOSSET A.M., LEFORT-BUSON M., GALLAIS A. 1991. *Relationship between heterosis and heterozygosity at marker loci: a theoretical computation*. Theoret. Appl. Genet. 81: 571–575.

- CIERES M.T., MILLER J.F., CRANE J.M., KNAPP S.L. 2000. Genetic distance as a predictor of heterosis and hybrid performance within and between heterotic groups in in sunflower. *Theoret. Appl. Genet.* 100: 889–894.
- DIERS B.W., MACVETTY P.B.E., OSBORN T.C. 1996. Relationship between heterosis and genetic distance based on restriction fragment length polymorphism markers in oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *Crop. Sci.* 36: 79–83.
- DUDLEY J.W., SHAGHAI MAROOF M.A., RUFENER G.K. 1991. Molecular markers and grouping of parents in a maize breeding program. *Crop. Sci.* 31: 718–723.
- GODSHALK E.B., LEE M., LAMKEY K.R. 1990. Relationship on restriction fragment length polymorphisms to single-cross hybrid performance in maize. *Theoret. Appl. Genet.* 80: 273–280.
- GRIFFING B. 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austral. J. Biol. Sci.* 9: 463–493.
- LEE M., GODSHALK E.B., LAMKEY K.R. 1989. Association of restriction fragment length polymorphisms among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. *Crop. Sci.* 29: 1067–1071.
- MARTIN J.M., TALBORT L.E., LANNING S.P., BLAKE N.K. 1995. Hybrid performance in wheat as related to parental diversity. *Crop. Sci.* 35: 104–108.
- MELCHINGER A.E., LEE M., LAMKEY K.R. 1990. Genetic diversity for restriction fragment length polymorphisms: relation to genetic effects in maize inbreds. *Crop. Sci.* 30: 1033–1040.
- PAGE R.D.M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357–358.
- PARENTONI S.N., MAGALHAES J.V., PACHECO C.A.P., SANTOS M.X., ABADIE T., GAMA E.E.G., GUIMARAES P.E.O., MEIRELLES W.F., LOPES M.A., VASCONCELOS M.J.V., PAIVA E. 2001. Heterotic groups based on yield-specific combining ability data and phylogenetic relationship determined by RAPD markers for 28 tropical maize open pollinated varieties. *Euphytica* 121(2): 197–208.
- SMITH J.S.C., SMITH O.S. 1992. Measurement of genetic diversity among maize inbreds; comparison of isozymic, RFLP, pedigree, and heterosis data. *Maydica* 37: 53–60.
- SMITH O.S., SMITH J.S.C., BOWEN S.L., TEBORG R.A., WALL S.J. 1990. Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F_1 heterosis, and RFLPs. *Theoret. Appl. Genet.* 80: 833–840.
- TERSAC M., BLANCHARD P., BRUNEL D., VANCOURT P. 1994. Relations between heterosis and enzymatic polymorphisms in populations of cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Theoret. Appl. Genet.* 88: 49–55.
- ZHANG Q., GAO Y.J., SAGHAI MAROOF M.A., YANG S.H., LI J.X. 1995. Molecular divergence and hybrid performance in rice. *Mol. Breed.* 1: 133–142.

Słowa kluczowe: AFLP, marchew, dystans genetyczny, heterozja, markery molekularne, RAPD

Streszczenie

Celem badań było oszacowanie korelacji pomiędzy efektem heterozji mieszańców F_1 a dystansem genetycznym linii rodzicielskich. Doświadczenia obejmują

jące 15 linii hodowlanych i 34 mieszańce prowadzone były w latach 1998 i 1999. Oceną objęto plon i jego strukturę, poziom karotenu, suchej masy oraz cukrów. Znacząco dodatnie wartości efektu heterozji pod względem plonu ogólnego wystąpiły w 59% badanych mieszańców i w 38% – dla plonu handlowego. Zawartość składników odżywczych w korzeniach spichrzowych pokolenia F₁ była przeważnie na średnim poziomie w stosunku do form wyjściowych, a efekt heterozji występował tu rzadko. Analiza markerów molekularnych przeprowadzona była za pomocą dwóch metod: RAPD i AFLP. Wartości korelacji były istotne między dystansem genetycznym obliczonym dla markerów RAPD a heterozją pod względem plonu ogólnego ($r = 0,42^*$) oraz pomiędzy dystansem AFLP a heterozją pod względem plonu handlowego ($r = 0,34^*$). Uzyskane wyniki wskazują na pewne możliwości przewidywania efektu heterozji pokolenia F₁ w oparciu o odległości genetyczne między liniami hodowlanymi.

CORRELATION BETWEEN THE HETEROSIS OF F₁ CARROT HYBRIDS AND THE GENETIC DISTANCE OF THEIR PARENTAL LINES

Barbara Jagosz

Department of Genetics, Plant Breeding and Seed Science,
Agricultural University, Kraków

Key words: AFLP, carrot, genetic distance, heterosis, molecular markers, RAPD

Summary

The aim of this research was to estimate the correlation between the effect of heterosis in F₁ hybrids and genetic distance of their parental lines. The experiment carried out in 1998 and 1999, included 15 inbred lines and 34 hybrids of carrot. The yield structure and content of carotene, dry matter and sugar were evaluated. Significant heterosis occurred in 59% hybrids for the total yield, and in 38% – for market yield. Generally, the contents of nutrients in F₁ carrot roots was on the average level as related to used parental lines, and the effect of heterosis was observed rather rarely. RAPD and AFLP markers were used for estimation of genetic distance between parental lines. Significant correlations were found only between analysis based on RAPD markers and heterosis of total yield ($r = 0.42^*$), and between AFLP markers and heterosis of market yield ($r = 0.34^*$). That indicated on same possibility to predict the effect of hybrids heterosis by estimation of genetic distances between parental lines.

Dr inż. Barbara **Jagosz**
Katedra Genetyki, Hodowli i Nasiennictwa
Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja
Al. 29 Listopada 54
31-425 KRAKÓW
e-mail: bjagosz@ogr.ar.krakow.pl