

BADANIE PODOBIENSTWA GENETYCZNEGO MIĘDZY LINIAMI WSOBNYMI KUKURYDZY PRZY UŻYCIU MARKERÓW MOLEKULARNYCH SSR

Agnieszka Tomkowiak¹, Katarzyna Kociszewska¹, Jan Bocianowski¹,
Sylwia Mikołajczyk¹, Danuta Kurasiak-Popowska¹✉, Dorota Weigt¹,
Kamila Nowosad², Henryk Bujak², Jerzy Nawracała¹

¹UP w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii

²UP we Wrocławiu, Wydział Przyrodniczo-Technologiczny

Streszczenie. Programy hodowlane kukurydzy koncentrują się na otrzymaniu odmian mieszańcowych wykazujących jak najwyższy efekt heterozji. Wielu badaczy przypisuje zależność tego efektu od dystansu genetycznego form wyjściowych przy uwzględnieniu ich pochodzenia. Uważa się, że im mniej podobne genetycznie do siebie są linie wyjściowe, tym większy efekt heterozji generują ich mieszańce F_1 . Narzędziem umożliwiającym grupowanie linii wsobnych oraz wyznaczanie dystansu genetycznego między nimi są markery molekularne. Materiałem roślinnym użytym do badań były 94 linie wsobne kukurydzy z Hodowli Roślin Smolice Spółka z o.o. oraz w Małopolskiej Hodowli Roślin. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano użyteczność markerów molekularnych SSR do podziału genotypów grupy podobieństwa oraz do wyznaczania dystansu genetycznego między liniami wsobnymi kukurydzy. Dystans genetyczny wyznaczony w oparciu o markery molekularne mieścił się w zakresie od 48% do 97%. Dystans między liniami wsobnymi kukurydzy ustalony na podstawie wielkości analizowanych cech struktury plonu wahał się w zakresie od 86% do 99%.

Słowa kluczowe: kukurydza, markery mikrosatelitarne, podobieństwo genetyczne

WSTĘP

Obecnie podstawą hodowli kukurydzy jest wykorzystanie zjawiska heterozji (wybujałości mieszańców F_1), występującego na skutek skrzyżowania dwóch linii wsobnych o jak największej zdolności kombinacyjnej. W efekcie otrzymywane są wysokopienne

✉popowska@up.poznan.pl

mieszańce o cechach przewyższających linie rodzicielskie. Odpowiednie dobranie komponentów rodzicielskich nowych odmian mieszańcowych staje się kluczowym elementem w procesie hodowlanym [Kuriata i Topolski 2003]. Wielu naukowców uważa, że heterozja związana jest z dystansem genetycznym między formami rodzicielskimi, określanym przez polimorfizm DNA. Obecnie prowadzone są intensywne badania nad możliwością wykorzystania markerów molekularnych przy wyborze linii rodzicielskich do krzyżowań heterozyjnych.

Celem badań była analiza zróżnicowania genetycznego linii wsobnych kukurydzy (wyprowadzonych z różnych materiałów wyjściowych) przeznaczonych do krzyżowań heterozyjnych oraz analiza zmienności cech struktury plonu tych linii.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem roślinnym użytym do badań były 94 linie wsobne kukurydzy wyprowadzone ze zróżnicowanych materiałów wyjściowych, które posłużą jako komponenty rodzicielskie do krzyżowań heterozyjnych. Linie te pochodziły z Hodowli Roślin Smolice Spółka z o.o. oraz oddziału Małopolskiej Hodowli Roślin w Kobierzycach.

Roczne doświadczenie polowe z liniami wsobnymi kukurydzy zostało założone w 2015 roku na poletkach o powierzchni 10 m² w układzie bloków losowanych kompletnych w trzech powtórzeniach w Hodowli Roślin Smolice Sp. z o.o. Pomiary biometryczne wybranych cech morfologicznych oraz wybranych cech struktury plonu zostały przeprowadzone w pierwszej połowie listopada 2015 roku i obejmowały: wysokość rośliny, wysokość osadzenia pierwszej kolby, średnica kolby, długość kolby, liczba rzędów ziarna w kolbie, liczba ziaren z kolby, masa świeżych ziaren z kolby, masa ziaren z kolby przy wilgotności 15%. Pomiary dotyczące cech struktury plonu przeprowadzano na 20 losowo wybranych kolbach z trzech powtórzeń każdej linii wsobnej.

Materiał do badań polimorfizmu DNA pobrano z 10-dniowych siewek uzyskanych ze skielkowanych w warunkach laboratoryjnych ziarniaków. Z każdej odmiany z losowo wybranych 5 roślin pobrano fragment liścia do izolacji. Izolację DNA prowadzono wykorzystując zestaw do izolacji genomowego DNA z roślin Genomic Mini AX PLANT firmy A&A Biotechnology zgodnie z dołączoną procedurą. Próby po izolacji rozcieńczano wodą destylowaną w celu uzyskania jednolitego stężenia DNA 40 ng/μl. Reakcję PCR (Polymerase Chain Reaction) przeprowadzono w mieszaninie reakcyjnej o składzie: woda – 5 μl, DreamTaqTMGreen PCR Master Mix – 6,25 μl, starter – 0,25 μl (stężenie końcowe starterów wynosiło 20 μM), matryca DNA – 1 μl. Sekwencje starterów użytych do analiz SSR [Smith 1997] oraz ich temperatury przyłączania zamieszczono w tabeli.

Rozdział elektroforetyczny produktów reakcji PCR prowadzono w 2,5-procentowym żelu agarozowym.

Dendrogram dystansu genetycznego wyznaczonego przy użyciu markerów molekularnych SSR sporządzono przy wykorzystaniu programu komputerowego UVIMAP w funkcji Nei i Li [1979] korzystając ze wzoru:

$$GS = 2n_{xy} / (n_x + n_y)$$

Tabela. Sekwencje starterów oraz ich temperatury przyłączenia

Table. The sequences of the primers and their annealing temperature

Nazwa Name	Starter F (5'-3') Primer F (5'-3')	Starter R (5'-3') Primer R (5'-3')	Temp. przyłą- czania Anne- aling temp.
Phi053	CTGCCTCTCAGATTCAGAGATTGAC	AACCCAACGTACTCCGGCAG	61°C
Phi127	ATATGCATTGCCTGGAAGTGAAGGA	AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT	62°C
Phi101049	CCACGTCCATGATCACACC	CCGGAACTTGTTTCATCG	57°C
Phi3390117	ACTGCTGTGGGGTAGGG	GCAGCTTGAGCAGGAAGC	58°C
Phi331888	TTGCGCAAGTTTGTAGCTG	ACTGAACCGCATGCCAAC	57°C
Phi423796	CACTACTCGATCTGAACCACCA	CGCTCTGTGAATTTGCTAGCTC	57°C
Phi328175	GGGAAGTGCTCCTTGACAG	CGGTAGGTGAACGCGGTA	58°C
Phi034	GGGGAGCACGCCTCCGTTCT	TAGCGACAGGATGGCCTCTTCT	63,5°C
Phi100175	TATCTGACGAATCCCATTCCC	GTACGTACCGGACGGACGG	58,6°C
Phi233376	CCGGCAGTCGATTACTCC	CGAGACCAAGAGAACCCTCA	57,2°C
Phi059	AAGCTAATTAAGGCCGGTCATCCC	TCCGTGTACTCGGCGGACTC	62,2°C
Phi041	TTGGCTCCCAGCGCCGCAAA	GATCCAGAGCGATTTGACGGCA	66,5°C
Phi039	ACCGTGTCTAATGTGTCCATACGG	CGTTAGGAGCTGGCTAGTCTCA	59,5°C
Phi098	GTATGGTTGGGTACCCGTCTTTCTA	GAGATCACCGGCTAGTTAGAGGA	58,9°C
Phi090	CTACCTATAACAAGCGATGGGGA	CGTGCAAATAATTCCTCCGTGGGA	60,9°C
Phi053	CTGCCTCTCAGATTCAGAGATTGAC	AACCCAACGTACTCCGGCAG	60,8°C
Phi047	GGAGATGCTCGACTGTTCTC	CTCCACCCTCTTTGACATGGTATG	58,9°C
Phi074	CCCAATTGCAACAACAATCCTTGCCA	GTGGCTCAGTGATGGCAGAAACT	61,8°C
Phi079	TGGTGCTCGTTGCCAAATCTACGA	GCAGTGGTGGTTTCGAACAGACAA	61,8°C
Phi066	CCATCCTTGAGGTGGTGTGAC	GAAGAAGCAGTAGCACTTGGT	58,8°C

gdzie:

GS – indeks podobieństwa genetycznego (genetic similarity) między dwiema badanymi liniami,

$2n_{xy}$ – liczba prążków w obu genotypach,

n_x, n_y – liczba prążków charakterystycznych dla danego genotypu.

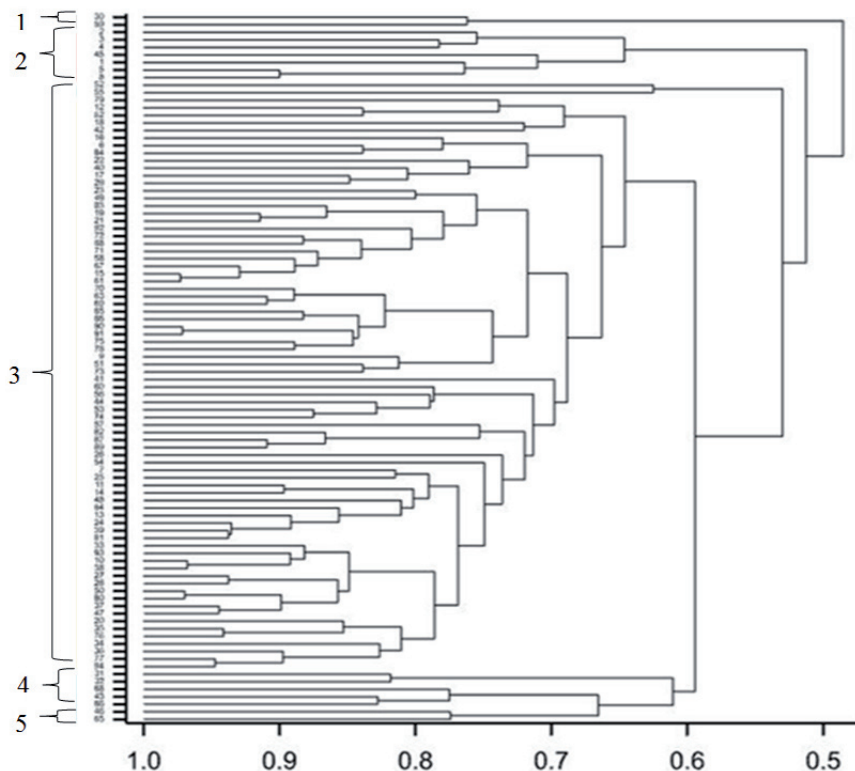
Dystans genetyczny między liniami wsobnymi kukurydzy obliczono ze wzoru:

$$D = 1 - GS$$

Dendrogram przedstawiający dystans między analizowanymi liniami wyznaczony na podstawie wartości analizowanych cech fenotypowych wyrażono odległościami Euklidesowymi. Odległość Euklidesowa jest miarą odległości między dwoma skupiskami wyznaczoną w linii prostej, która przeznaczona jest tylko do analizy zmiennych ilościowych. Zmienność wartości zróżnicowania molekularnego i fenotypowego przedstawiono na wykresie pudełkowym.

WYNIKI

Wartość dystansu genetycznego między liniami wsobnymi kukurydzy, wyznaczonego przy użyciu 20 par starterów wahała się w zakresie od 48% (między liniami a pozostałymi genotypami) do 97% (w przypadku linii 15–61, 50–80, 10–38, 90–91). Średnio jedna para starterów generowała od 1 do 4 prążków polimorficznych. Linie, które dzielił największy dystans w większości przypadków pochodziły z tych samych hodowli. Genotypy podzielono na pięć grup podobieństw. Grupy 1 i 5 zawierały po 2 genotypy, grupy 2 i 4 po 7. Najwięcej linii (76) zostało przypisanych do grupy 3, w której jako jedynej możliwe było wyróżnienie podgrup (rys. 1). Tylko dwie grupy zawierały linie pochodzące wyłącznie z tej samej hodowli – grupa 1 i 2. W pozostałych przypadkach zaobserwowano dużą różnorodność jeżeli chodzi o grupowanie pod względem przynależności do hodowli, z której linie pochodzą.

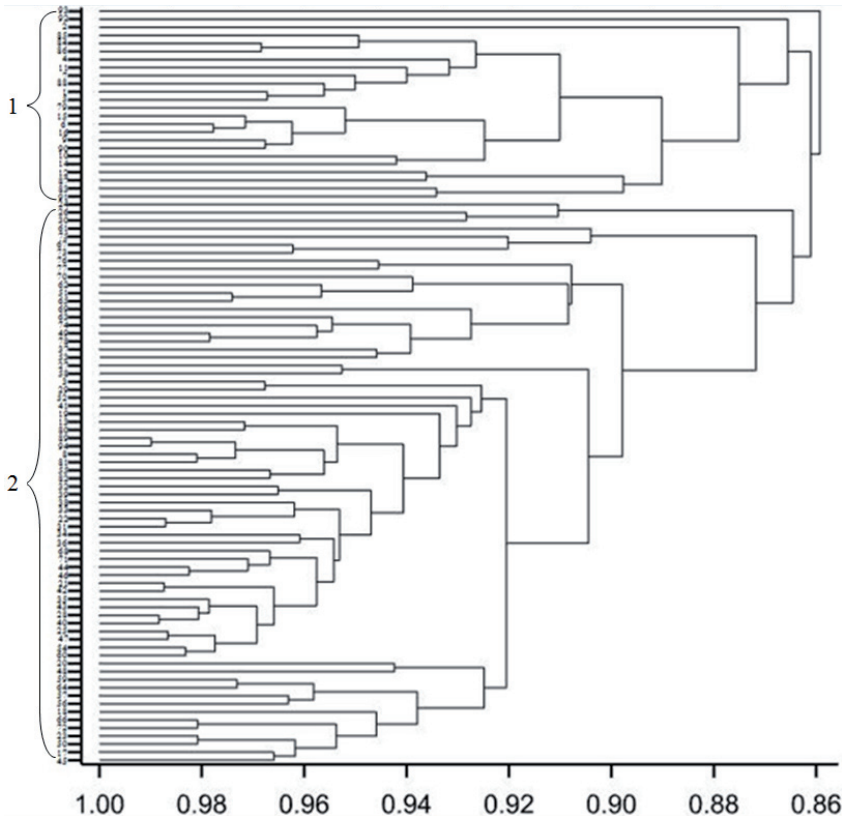


Rys. 1. Dendrogram dystansu genetycznego wyznaczony w oparciu o analizę markerów molekularnych SSR przy użyciu programu komputerowego UVIMAP w funkcji Nei i Li [1979]. Genotypy 1–60 pochodzą z Hodowli Roślin Smolicach, 61–94 z Małopolskiej Hodowli Roślin

Fig. 1. Dendrogram of genetic distance based on the analysis of SSR molecular markers using the UVIMAP computer program in Nei and Li [1979]. Genotypes 1–60 come from Plant Breeding Smolice and the 61–94 from Malopolska Plant Breeding

Wartość dystansu genetycznego wyznaczonego na podstawie analizy wartości cech struktury plonu mieściła się w zakresie od 86% między linią 93 a pozostałymi do 99% między liniami 22–31, 21–42, 28–40, 25–47 (które pochodziły z tych samych hodowli). Na podstawie uzyskanych danych genotypy podzielono na dwie główne grupy (rys. 2), które dzielił dystans genetyczny wynoszący 86,5% oraz osobną linię (93) podobną do nich w 14%. Pierwsza grupa podobieństwa zawierała 24 genotypy i dzieliła się na podgrupy. Pozostałe linie (69) przypisano do grupy drugiej, w której możliwe było wyróżnienie podgrup, jednakże tendencją do grupowania według hodowli, z której uzyskano genotypy zaobserwowano w przypadku pięciu z sześciu podgrup.

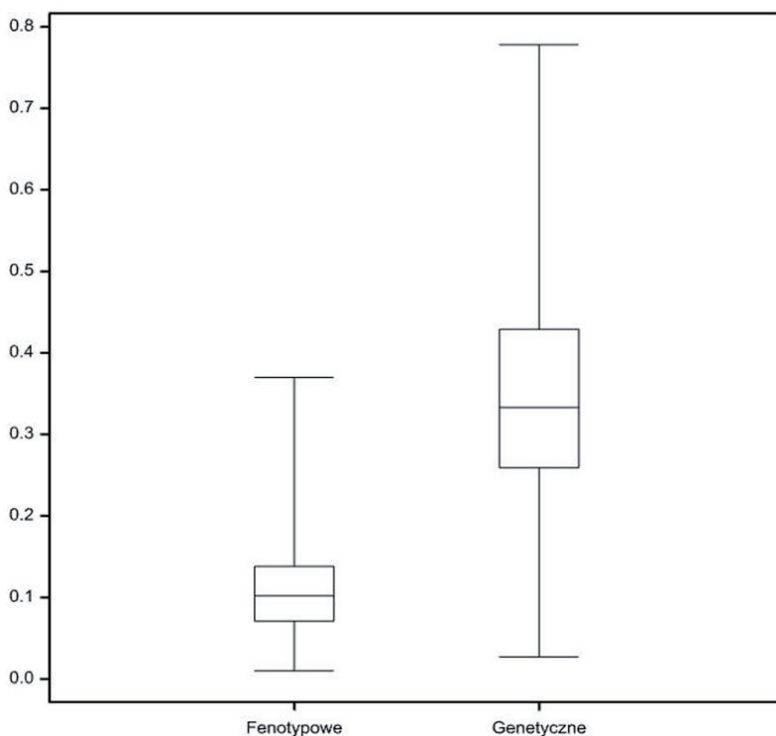
Zróżnicowanie fenotypowe wyrażone odległościami Euklidesa charakteryzowało się mniejszą zmiennością niż zróżnicowanie genetyczne oszacowane metodą Nei i Li (rys. 3). Odległości między obiektami na poziomie fenotypowym wynosiły od 0,01 do



Rys 2. Dendrogram wyznaczony na podstawie analizy wartości analizowanych cech morfologicznych oraz cech struktury plonu za pomocą odległości Euklidesa. Genotypy 1–60 pochodzą z Hodowli Roślin Smolicach, 61–94 z Małopolskiej Hodowli Roślin.

Fig. 2. A dendrogram based on the analysis of the values of the analyzed morphological features and yield features by Euclidean distance. Genotypes 1–60 come from Plant Breeding Smolice and the 61–94 from Małopolska Plant Breeding.

0,37, ze średnią wartością wynoszącą 0,11. Z kolei zróżnicowanie molekularne kształtowało się od 0,027 do 0,778, przy czym średnia wartość wynosiła 0,35. Zarówno analizy molekularne, jak i analizy cech struktury plonu pozwalają na wyznaczenie grup podobieństw między analizowanymi liniami, które w większości grupują się zgodnie z przynależnością do hodowli, z której pochodzą. Analizując zakres zmienności wyznaczony na podstawie analiz molekularnych z zakresem zmienności wyznaczonym na podstawie analiz cech fenotypowych, nie zaobserwowano zbieżności między nimi (rys. 3).



Rys 3. Graficzne przedstawienie zakresu zmienności wyznaczonej na podstawie danych molekularnych i fenotypowych

Fig. 3. Graphical representation of the range of variability determined on the basis of molecular and phenotypic data

DYSKUSJA

Hodowcy kukurydzy poszukują coraz nowszych i doskonalszych metod, które umożliwiłyby jak najdokładniejszą ocenę zmienności genetycznej wykorzystywanej podczas wyprowadzania nowych odmian. Różnorodność materiałów hodowlanych może być określona na podstawie markerów izoenzymatycznych (sprzężonych z określoną cechą) lub poprzez analizę DNA. Wielu autorów stara się wyselekcjonować komponenty rodzicielskie, wykorzystując dystans genetyczny wyznaczany na podstawie polimorfizmu marke-

rów DNA [Broda i in. 2007]. Użyteczność markerów molekularnych do prognozowania efektu heterozji stwierdzono przy założeniu, że są one silnie dominujące, frekwencja alleli jest negatywnie skorelowana z liniami wyjściowymi, mają one wysoki wskaźnik odziedziczalności oraz występuje połączenie między loci cech ilościowych [Bernardo 1992].

Rafalski i in. [1998] wyznaczyli podobieństwo linii wsobnych kukurydzy za pomocą metod wykorzystujących reakcje PCR z zastosowaniem systemu RAPD oraz z użyciem starterów zawierających częściowe sekwencje pogranicza intron-egzon. Obie techniki okazały się przydatne podczas oceny zróżnicowania genetycznego, a zastosowanie starterów fragmentarycznie komplementarnych do zetknięcia intron-egzon pozwoliło na analizę genotypów o wysokim podobieństwie. Przydatność markerów RAPD do grupowania genotypów według podobieństwa potwierdzili Tomkowiak i inni [2009]. Dziesięć par starterów generowało 72 prążki polimorficzne (3–9 dla pojedynczego startera), które umożliwiły analizę dystansu genetycznego między komponentami rodzicielskimi linii mieszańcowych. Wahał się on w przedziale od 64% do 93%. Jednakże nie wykazano istotnej korelacji między dystansem genetycznym form rodzicielskich a wielkością heterozji cech struktury plonu pokolenia F1, wyznaczoną względem średniej wartości cechy linii wyjściowych. Z tej przyczyny system RAPD nadaje się do grupowania genotypów pod względem pochodzenia, jednakże nie jest wystarczający do selekcji linii ojcowskich i matecznych w hodowli heterozyjnej.

Badania prowadzone z użyciem markerów RLFP prowadzone na 148 liniach wsobnych kukurydzy potwierdziły możliwość ich stosowania podczas grupowania materiału hodowlanego na grupy heterotyczne. Zastosowanie 48 markerów RLFP umożliwiło wyodrębnienie dwóch głównych grup [Mumm i Dudley 1997]. Dillman i inni [1997] użyli markerów RLFP oraz dystansu fenotypowego w badaniach 145 linii wsobnych kukurydzy. Stwierdzili, iż ten system markerów jest przydatnym narzędziem do różnicowania blisko spokrewnionych osobników pochodzących z różnych źródeł hodowlanych. Jednakże nie jest odpowiedni do przewidywania efektu heterozji w krzyżowaniach linii z różnych grup heterotycznych [Benchimol i in. 2000].

Możliwości określania dystansu genetycznego linii wsobnych kukurydzy szukano także, stosując system ALFP [Tomkowiak i in. 2010]. Pięć par starterów generowało 56 prążków polimorficznych (5–16 dla jednego startera) umożliwiających wyznaczenie stopnia podobieństwa, który był skorelowany z efektem heterozji. Znaczenie dystansu genetycznego było większe w przypadku heterozji dotyczącej długości kolby oraz jej średnicy, najmniejsze zaś względem plonu ziarna.

Berilli i inni [2011] badali dystans genetyczny między dwoma populacjami kukurydzy (CYMMYT oraz Piranao), który oszacowali za pomocą markerów ISSR (*inter-simple sequence repeat*) – 13 starterów generowało aż 140 prążków, z czego 84,4% było polimorficznych. Przebadane genotypy podzielono zgodnie z dystansem genetycznym na dwie zasadnicze grupy, które zawierały głównie osobniki z jednej populacji.

Każda z powyższych technik ma swoje wady. Markery RAPD są bardzo łatwe i szybkie do otrzymania z powodu ich losowej sekwencji, jednakże wykazują brak powtarzalności. Markery ALFP mają średnią powtarzalność, ale są kosztowne i pracochłonne, system RFLP zaś nie wykazuje korelacji dystansu genetycznego z wysokością efektu heterozji. Systemem, który eliminuje niektóre z tych mankamentów oraz wykazuje duży polimorfizm, są markery SSR. Powell i inni [1996] w swoich badaniach wykazali, iż

startery te produkują dwa razy więcej informacji w porównaniu do AFLP i RAPD oraz o 40% więcej niż RFLP w odniesieniu do liczby alleli dla locus. Garcia i inni [2004] otrzymali podobne wartości dystansu genetycznego między liniami wsobnymi kukurydzy przy zastosowaniu systemów RAPD, AFLP oraz SSR. Shehata i inni [2009] udowodnili przydatność systemu SSR do oceny zarówno dystansu i podobieństwa, jak i heterozygotyczności ośmiu linii wsobnych kukurydzy. Jednakże rozróżnienie nie było możliwe w przypadku linii otrzymanych z kontrolowanego zapylenia tych samych linii wyjściowych. Wykazali również, iż inne pochodzenie nasion tych samych linii wsobnych jest ważnym czynnikiem wprowadzającym różnorodność genetyczną. Hoxia i inni [2003] wykazali, że markery SSR są użytecznym narzędziem do oceny dystansu genetycznego pomiędzy populacjami kukurydzy, jak i w ich obrębie. Zaobserwowano, iż populacje są między sobą odmienne w różnym stopniu, co wynika z ich dostosowania do rozbieżnych warunków środowiskowych, w których są uprawiane. Podobne wyniki otrzymali Senior i inni [1998], którzy dokonali podziału 94 linii wsobnych kukurydzy na 9 grup, odpowiadającym głównym grupom heterotycznym. Badania własne potwierdziły przydatność markerów SSR do oceny zróżnicowania genetycznego linii wsobnych kukurydzy oraz ich podziału na 5 grup podobieństw. W przypadku jednej z nich możliwy był podział na podgrupy. Zaobserwowano, iż rozkład genotypów w grupach w większości wypadków wykazuje przewagę linii pochodzących z tej samej hodowli. Podział na grupy oraz podgrupy podobieństw jest możliwy również na podstawie analizy cech fenotypowych, jednakże nie koreluje on z dystansem molekularnym. Dodatkowo dystans wyznaczony w oparciu o markery molekularne charakteryzuje się większą zmiennością (48–97%) niż dystans wyznaczony w oparciu o cechy fenotypowe (86–99%), tym samym dając hodowcom więcej informacji przydatnych podczas procesu selekcji komponentów rodzicielskich. Z tej przyczyny wybór linii wyjściowych powinien opierać się o dystans wyznaczony za pomocą markerów molekularnych.

Dotychczasowy stan wiedzy nie jest wystarczający do jednoznacznego stwierdzenia czy dystans genetyczny lub podobieństwo mogą być podstawą do wnioskowania o wielkości uzyskanego efektu heterozji, jednakże markery molekularne są przydatnym narzędziem podczas grupowania linii pod względem puli genowych. Podział taki ma pozytywny wpływ na optymalne wykorzystanie efektu heterozji [Melchinger 1999].

WNIOSKI

1. Markery molekularne SSR są przydatnym narzędziem do określania dystansu genetycznego między liniami wsobnymi kukurydzy.

2. Dystans genetyczny określony za pomocą 20 par starterów SSR mieścił się w zakresie 48–97%. Dystans wyznaczony na podstawie wartości analizowanych cech morfologicznych i struktury plonu przyjmował wartości od 86–99%.

3. Zróżnicowanie genetyczne obliczone za pomocą metody Nei i Li wykazało większą zmienność niż zróżnicowanie fenotypowe wyrażone odległościami Euklidesa.

4. Grupy podobieństw wyznaczone za pomocą markerów molekularnych nie są analogiczne do tych uzyskanych podczas analizy cech struktury plonu.

LITERATURA

- Benchimol L., de Souza Jr C., Garcia A., Mangolin C., Barbosa A., Coelho A., de Souza A., 2000. Genetic diversity in tropical maize inbred lines: heterotic group assignment and hybrid performance determined by RFLP markers. *Plant breeding*. 116, 491–496.
- Berilli A., Pereire M., Goncalves L., Cunha K., Ramos H., Souza Filho G., do Amaral Junior A., 2011. Use of molecular markers in reciprocal recurrent selection of maize increases heterosis effects. *Genet. Mol. Res.* 10(4), 2589–2596.
- Bernardo R., 1992. Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. *Theoret. Appl. Genetics* 83, 628–634.
- Broda Z., Tomkowiak A., Moliński K., Adamczyk J., 2007. Badanie podobieństwa genetycznego pomiędzy formami rodzicielskimi mieszańców liniowych kukurydzy przy użyciu markerów molekularnych AFLP i RAPD. *Biuletyn IHAR* 244, 191–201.
- Dillman C., Bar-Hen A., Guerin D., Charcosset A., Murigneux A., 1997. Comparison of RFLP and morphological distance between maize *Zea mays* L. inbred lines. Consequences for germplasm protection purposes. *Theor. Appl. Genet.* 95, 92–102.
- Garcia A., Benchimol L., Barbosa A., Geraldi I., Souza C., de Souza A., 2004. Comparison of RAPD, RFLP, AFLP and SSR markers for diversity studies in tropical maize inbred lines. *Genetic and molecular biology* 27(4), 579–588.
- Hoxha S., Shariflou M., Sharp P., 2003. Evaluation of genetic diversity in albanian maize using SSR markers. *Maydica* 49, 97–103.
- Kuriata R., Topolski A., 2003. Wartość hodowlana linii wsobnych kukurydzy z hodowli w Kobierzycach. *Biuletyn IHAR* 240/241, 167–173.
- Melchinger A., Gumber R., 1998. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. Concepts and breeding of heterosis in crop plants, *CSSA Special Publication* 25, 29–44.
- Mumm R., Dudley J., 1994. A classification of 148 US maize inbred. I. Cluster analysis based on RFLPs. *Crop Sci.* 34, 842–851.
- Nei M., Li W., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 76(10), 5269–5273.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanagey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A., 1996. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 2, 225–238.
- Rafalski A., Gidzińska M., Wiśniewska I., 1998. Systemy PCR w badaniach pokrewieństwa genetycznego linii kukurydzy. *Biul. IHAR* 208, 131–140.
- Senior M., Murphy N.M., Goodman M., Stuber C., 1998. Utility of SSRs determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci.* 38, 1088–1098.
- Shehata A., Al-Ghethar H., Al-Homaidan A., 2009. Application of simple sequence repeat (SSR) markers for molecular diversity and heterozygosity analysis in maize inbred lines. *Saudi Journal of Biological Sciences* 16, 57–62.
- Smith J., Chin E., Shu H., Smith O., Wall S., Senior M., Mitchell S., Kresovich S., Ziegler J., 1997. An evolution of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPs and pedigree. *Theor. Appl. Genet.* 95, 163–173.
- Tomkowiak A., Broda Z., Adamczyk J., 2009. Ocena zróżnicowania genetycznego linii kukurydzy przydatnych do hodowli mieszańców heterozyjnych przy użyciu markerów molekularnych AFLP i RAPD. *Acta Sci. Pol., Agricultura* 8(1), 69–82.
- Tomkowiak A., Broda Z., Moliński K., Molińska-Glura M., 2010. Attempt to adapt a statistical model for the heterosis effect in maize F₁ hybrids depending on the genetic distance of parental forms. *Plant breeding and seed science* 62, 43–56.

STUDY OF GENETIC SIMILARITY BETWEEN PARENTAL FORMS OF MAIZE HYBRID LINES USING MOLECULAR MARKERS OF SSR

Summary. Breeding programs focus on obtaining hybrid varieties with the greatest heterosis effect, by which significant higher yields can be achieved through appropriate selection of parent components. Many researchers assign the height of this effect to the genetic distance of the initial forms, taking into account their origin. It is believed that the less similar lines are the output lines, the greater the effect of heterosis generates their hybrids F1. Therefore, methods are sought that would allow for the initial selection of lines for heterosis crosses based on their genetic material. The molecular markers are a tool for grouping inbred lines into groups and for determining the genetic distance between them. Individual marker systems differ in amplified DNA regions and the number of polymorphic bands generated, and thus accuracy. The plant material used for the study were 94 inbred lines of maize from the Plant Breeding Smolice and Malopolska Plant Breeding. As a result of the studies, the usefulness of SSR molecular markers for the division of genotypes into groups and the determination of genetic distance between maize inbred lines have been demonstrated. The genetic distance determined by 20 pairs of SSR primers ranged from 48% to 97% and the genotypes were divided into five groups of similarities. The lines that shared the greatest distance in most cases came from the same breeding company. The distances determined on the basis of yield structure traits ranged from 86% to 99% and the genotypes were divided into two groups of similarities. Genetic diversity calculated by Nei and Li showed greater variability than phenotypic differences expressed by Euclidean distances. The distances between objects at the phenotypic level ranged from 0.01 to 0.37, with an average value of 0.11. In contrast, the molecular variation was from 0.027 to 0.778, with an average value of 0.35. Both molecular analyzes and analysis of yield characteristics allowed the identification of similarity groups between the analyzed lines, most of which were grouped according to their origin.

Key words: maize, SSR markers, genetic similarity