

JAN BOCIANOWSKI, TERESA GOSZCZURNA

Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

CZY ZRÓŻNICOWANIE NA POZIOMIE GENOTYPOWYM DETERMINUJE ZRÓŻNICOWANIE NA POZIOMIE FENOTYPOWYM LINII PODWOJONYCH HAPLOIDÓW JĘCZMIENIA (*HORDEUM VULGARE* L.)?

DOES GENETIC DIVERSITY AFFECTS PHENOTYPIC DIVERSITY
OF DOUBLED HAPLOID LINES OF BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.)?

Streszczenie. W pracy badano zależność pomiędzy zróżnicowaniem genotypowym a fenotypowym czterech cech ilościowych linii podwojonych haploidów jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.). Stwierdzono brak takich zależności dla trzech rozważanych cech.

Słowa kluczowe: zróżnicowanie, linie podwojonych haploidów, grupowanie hierarchiczne, jęczmień

Wstęp

Dobór komponentów do krzyżowań w celu otrzymania nowych – lepszych odmian może się odbywać na poziomie fenotypowym roślin, jak i na poziomie genotypowym. Selekcja na podstawie jedynie fenotypu może być przeprowadzona na podstawie wyników doświadczeń, np. diallelicznych lub typu linia \times tester (DOBEK i IN. 1983, MENZ i IN. 1999, BOCIANOWSKI i IN. 2008). Jest ona jednak czasochłonna. Często alternatywą jest wybór dokonany wyłącznie z wykorzystaniem obserwacji markerowych, na podstawie zróżnicowania/podobieństwa badanych form (KUCZYŃSKA i IN. 2003). Zaletą jest możliwość przeprowadzenia tych badań na wczesnych etapach rozwoju rośliny. Najkorzystniejsza byłaby selekcja obiektów dokonana równocześnie ze względu na fenotyp i genotyp rośliny (BOCIANOWSKI i IN. 2003, LIERSCH i IN. 2008)

Celem pracy było sprawdzenie, czy zróżnicowanie linii podwojonych haploidów jęczmienia na podstawie obserwacji markerów molekularnych przekłada się na ich

zróżnicowanie fenotypowe. Badania przeprowadzono na podstawie czterech cech ilościowych.

Material i metody

Materiał do badań stanowiło 56 linii podwojonych haploidów (DH) jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.), będących wynikiem skrzyżowania dwóch zróżnicowanych fenotypowo i genotypowo form: australijskiej odmiany ‘Clipper’ i algierskiej lokalnej formy ‘Sahara 3771’. Linie DH otrzymano w Instytucie Badań Rolnictwa Waite (WARI – Waite Agricultural Research Institute, Uniwersytet w Adelaide, Australia) (KARAKOUSIS i IN. 2003). Linie były rozpatrywane pod względem czterech cech ilościowych: zawartości beta-amylazy (BA), zawartości alfa-amylazy (AA), zawartości beta-glukanazy (BG) oraz odporności na nicienie (CCN). Ponadto wykorzystano obserwacje 183 markerów molekularnych (typu SSR i RFLP) przeprowadzone na wszystkich badanych liniach podwojonych haploidów. Pełen opis materiału doświadczalnego oraz stosowanych metod analiz biochemicznych cech użytkowych znajduje się w pracy KARAKOUSISA i IN. (2003). Analizy w zakresie mapowania i lokalizacji genów determinujących wyżej wymienione cechy ilościowe, jak i metody estymacji efektów addytywnego i epistatycznego działania genów zostały przedstawione we wcześniejszych pracach (KARAKOUSIS i IN. 2003, BOCIANOWSKI 2008).

Współczynniki podobieństwa genetycznego (S) badanych linii podwojonych haploidów obliczono, korzystając ze wzoru (NEI i LI 1979):

$$S_{ij} = \frac{2N_{ij}}{N_i + N_j}$$

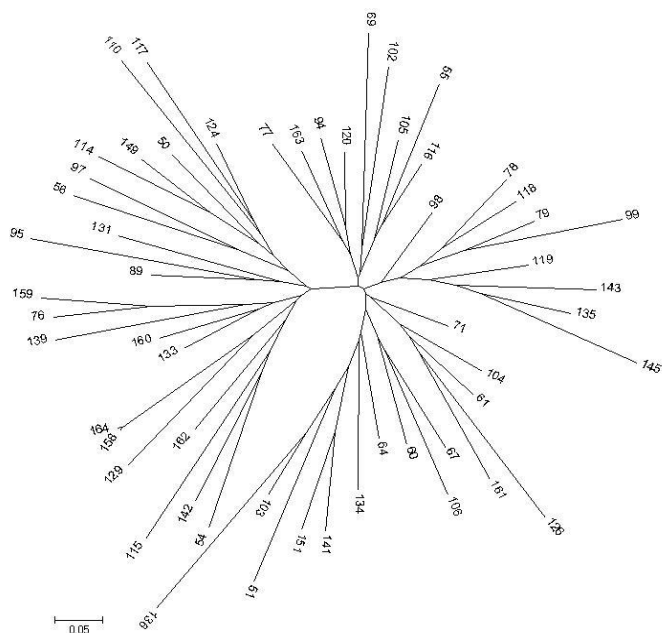
gdzie N_{ij} oznacza liczbę alleli obecnych zarówno u linii i , jak i u linii j , N_i – liczbę alleli obecnych u linii i , N_j – liczbę alleli obecnych u linii j ; $i, j = 1, 2, \dots, 56$. Współczynniki te posłużyły do hierarchicznego grupowania linii podwojonych haploidów metodą średnich połączeń. Wyniki przeprowadzonego grupowania przedstawiono w formie dendrogramu (KUMAR i IN. 2004).

Następnie przeprowadzono analizę wariancji obserwowanych cech (z grupami wyznaczonymi na podstawie dendrogramu jako poziomami czynnika różnicującego) w celu ustalenia, czy zmienność poszczególnych cech jest większa w obrębie wyróżnionych grup podobieństwa, czy też pomiędzy tymi grupami. Dla każdej cechy obliczono najmniejszą istotną różnicę na poziomie istotności $\alpha = 0,05$. Na podstawie testu Dunca (DUNCAN 1955) utworzono grupy jednorodne. Wszystkie obliczenia wykonano, korzystając z pakietu R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2009).

Wyniki i dyskusja

Obliczone współczynniki podobieństwa genetycznego charakteryzowały się dużą rozpiętością. Najmniejsze podobieństwo pod względem genetycznym – wynoszące

0,015 – wykazywały linie DH oznaczone symbolami 117 i 136. Najbardziej podobne były linie podwojonych haploidów 158 oraz 164, a współczynnik podobieństwa genetycznego dla nich był równy 0,988. Różnica pomiędzy największym a najmniejszym współczynnikiem podobieństwa genetycznego jest więc bardzo znaczna. Średni współczynnik podobieństwa genetycznego wynosił 0,530. Przeprowadzone na podstawie współczynników podobieństwa genetycznego grupowanie hierarchiczne linii podwojonych haploidów metodą średnich połączeń przedstawiono w formie dendrogramu (rys. 1). Otrzymano pięć grup linii DH stanowiących odrębne klasterki. W celu zweryfikowania hipotezy zerowej o braku wpływu zróżnicowania linii DH na poziomie genetycznym na ich zróżnicowanie fenotypowe przeprowadzono analizę wariancji czterech cech ilościowych z grupami jako poziomami czynnika różnicującego. Wyniki analizy wariancji przedstawiono w tabeli 1. Istotne statystycznie (na poziomie $\alpha = 0,05$) zróżnicowanie grup otrzymano jedynie dla zawartości beta-amylazy. W przypadku pozostałych trzech cech nie ma podstaw do odrzucenia hipotezy zerowej. Świadczy to o braku zależności pomiędzy zróżnicowaniem na poziomie fenotypowym i na poziomie genotypowym linii podwojonych haploidów jęczmienia. Brak współzależności pomiędzy zróżnicowaniem fenotypowym (mierzonym odległościami Mahalanobisa) a zróżnicowaniem genotypowym linii dwu- i wielorzędowych jęczmienia obserwowali RYBIŃSKI i IN. (2008). Statystycznie istotną zależność uzyskali w swych badaniach KUCZYŃSKA i IN. (2004).



Rys. 1. Hierarchiczne grupowanie 56 linii podwojonych haploidów jęczmienia na podstawie podobieństwa genetycznego 183 markerów molekularnych

Fig. 1. Hierarchical grouping of 56 barley doubled haploid lines on the basis of genetic similarity of 183 molecular markers

Tabela 1. Średnie kwadraty z analizy wariancji dla grup badanych linii podwojonych haploidów jęczmienia

Table 1. Mean squares from analysis of variance for groups of barley doubled haploid lines

Źródło zmienności Source of variation	Liczba stopni swobody Number of degrees of freedom	BA	AA	BG	CCN
Między grupami Between groups	4	429 341*	16 989	19 600	387,5
Wewnątrz grup (błąd) Residual	51	120 490	11 803	13 620	505,8

*Wartość istotna na poziomie $\alpha = 0,05$.

*Value significant at the level of $\alpha = 0.05$.

Grupy linii podwojonych haploidów uzyskane na podstawie grupowania hierarchicznego scharakteryzowano w tabeli 2, podając odpowiednie wartości średnie oraz współczynniki zmienności czterech obserwowanych cech. Ogólnie można stwierdzić,

Tabela 2. Wartości średnie (\bar{x}) oraz współczynniki zmienności (cv) dla grup linii podwojonych haploidów jęczmienia utworzonych na podstawie grupowania hierarchicznego metodą średnich połączeń

Table 2. Mean values (\bar{x}) and coefficients of variation (cv) for groups of barley doubled haploid lines obtained on the basis of the unweighted pair group method of arithmetic means

Numer grupy Group number	Linie podwojonych haploidów jęczmienia Barley doubled haploid lines	BA		AA		BG		CCN	
		\bar{x}	cv (%)	\bar{x}	cv (%)	\bar{x}	cv (%)	\bar{x}	cv (%)
1	54, 76, 115, 129, 139, 142, 133, 158, 159, 160, 162, 164	1 387 a	22,1	318 a	32,6	508 a	27,6	13,4 a	147,8
2	50, 56, 89, 95, 97, 110, 114, 117, 131, 124, 149	1 034 b	28,63	311 a	34,4	511 a	21,2	15,7 a	153,5
3	55, 69, 77, 94, 102, 105, 116, 120, 163	1 483 a	28,9	218 a	53,3	443 a	36,6	19,4 a	116,7
4	78, 79, 98, 99, 119, 118, 135, 143, 145	1 457 a	24,1	261 a	49,5	409 a	26,6	29,7 a	81,3
5	51, 60, 61, 64, 67, 71, 103, 104, 106, 134, 136, 141, 126, 151, 161	1 149 ab	31,1	298 a	31,9	490 a	13,0	20,1 a	110,5
NIR _{0,05} LSD _{0,05}		328,5		102,8		110,4		21,28	

Wartości średnie oznaczone w poszczególnych kolumnach tą samą literą nie różnią się istotnie.

Mean values designated in columns with the same letter are not significantly different.

Bocianowski J., Goszczurna T., 2011. Czy zróżnicowanie na poziomie genotypowym determinuje zróżnicowanie na poziomie fenotypowym linii podwojonych haploidów jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)? Nauka Przyr. Technol. 5, 6, #120.

iz utworzone grupy charakteryzują się podobnym zróżnicowaniem. Pod względem odporności na niczenie zaobserwowano dużą zmienność wewnątrzgrupową – współczynniki zmienności wynosiły od 81,8% do 153,5%.

Podsumowując, należy stwierdzić, że zróżnicowanie fenotypowe obiektów nie zawsze jest zgodne ze zróżnicowaniem genotypowym oszacowanym na podstawie markerów, m.in. molekularnych, stąd wydaje się, że podczas selekcji najkorzystniejszym rozwiązaniem byłoby rozpatrywanie obu rodzajów zmienności.

Wnioski

1. Badane linie podwojonych haploidów jęczmienia charakteryzowały się dużą rozpiętością współczynników podobieństwa genetycznego, wynoszącą od 0,015 do 0,988.

2. Grupowanie hierarchiczne linii DH jęczmienia umożliwiło uzyskanie pięciu odrębnych klastrów.

3. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, iż zróżnicowanie na poziomie genotypowym było zgodne ze zróżnicowaniem na podstawie obserwacji fenotypowych dla jednej z czterech badanych cech.

Literatura

- BOCIANOWSKI J., 2008. Comparison of two methods of estimation of nonallelic interaction of QTL effects on the basis of doubled haploid lines in barley. *Agric. Conspec. Sci.* 73, 3: 183-187.
- BOCIANOWSKI J., BRZESKWINIEWICZ H., ŁUCZKIEWICZ T., 2008. Wpływ doboru testerów na ocenę efektów GCA linii wsobnych rzepaku jarego. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl.* 250: 279-285.
- BOCIANOWSKI J., CHEŁKOWSKI J., KUCZYŃSKA A., WIŚNIEWSKA H., SURMA M., ADAMSKI T., 2003. Assessment of RAPD markers for barley doubled haploid lines resistant and susceptible to *Fusarium culmorum* at seedling and adult plant growth stages. *J. Appl. Genet.* 44, 3: 355-360.
- DOBEK A., KACZMAREK Z., KIELCZEWSKA H., ŁUCZKIEWICZ T., 1983. Theoretical fundamentals of diallel crosses analysis. I. Analysis of variance of a full diallel table with results of the experiment established in complete blocks. *Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl.* 151: 9-18.
- DUNCAN D.B., 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11, 1: 1-42.
- KARAKOUSIS A., BARR A.R., KRETSCHMER J.M., MANNING S., JEFFERIES S.P., CHALMERS K.J., ISLAM A.K.M., LANGRIDGE P., 2003. Mapping and QTL analysis of the barley population Clipper × Sahara. *Aust. J. Agric. Res.* 54, 12: 1137-1140.
- KUCZYŃSKA A., BOCIANOWSKI J., MASOJĆ P., SURMA M., ADAMSKI T., 2003. Zastosowanie markerów RAPD do określenia podobieństwa genetycznego odmian jęczmienia ozimego (*Hordeum vulgare* L.). *Biuletyn Inst. Hod. Aklim. Rośl.* 226/227: 81-85.
- KUCZYŃSKA A., BOCIANOWSKI J., SURMA M., KACZMAREK Z., ADAMSKI T., 2004. Relationship between phenotypic and genetic distances in a set of barley breeding lines. W: 9th International Barley Genetics Symposium, Proceedings. Brno, Czech Republic, 20-26 June 2004. Red. J. Spunar, J. Janikova. Agricultural Research Institute Kromeriz, Kromeriz: 88-92.
- KUMAR S., TAMURA K., NEI M., 2004. MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinf.* 5: 150-163.

Bocianowski J., Goszczurna T., 2011. Czy zróżnicowanie na poziomie genotypowym determinuje zróżnicowanie na poziomie fenotypowym linii podwojonych haploidów jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)? *Nauka Przyr. Technol.* 5, 6, #120.

- LIERSCH A., BOCIANOWSKI J., OGRÓDOWCZYK M., BARTKOWIAK-BRODA I., 2008. The relationship between different types of markers and fatty acid composition of parental lines of F₁ CMS *ogura* hybrids of winter oilseed rape (*B. napus* L.). W: *Genetyka i genomika w doskonaleniu roślin uprawnych*. Red. B. Naganowska, P. Kachlicki, P. Krajewski. Instytut Genetyki Roślin PAN, Poznań: 247-254.
- MENZ M.A., HALLAUER A.R., RUSSELL W.A., 1999. Comparative response of two reciprocal recurrent selection methods in BS21 and BS22 maize population. *Crop Sci.* 39: 89-97.
- NEI M., LI W.H., 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 76, 10: 5269-5273.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [<http://www.r-project.org>].
- RYBIŃSKI W., PANKIEWICZ K., BOCIANOWSKI J., RĘBARZ M., 2008. Analiza wybranych cech na poziomie genotypowym i molekularnym u dwu- i wielorzędowych linii podwojonych haploidów jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.). *Biul. Inst. Hod. Aklim. Rośl.* 249: 141-155.

DOES GENETIC DIVERSITY AFFECTS PHENOTYPIC DIVERSITY OF DOUBLED HAPLOID LINES OF BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.)?

Summary. In this paper the relationships between genotypic diversity and phenotypic diversity of four quantitative traits of doubled haploid lines of barley (*Hordeum vulgare* L.) were studied. The lack of significant relationships was found for three observed traits.

Key words: diversity, doubled haploid lines, hierarchical grouping, barley

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Jan Bocianowski, Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 28, 60-637 Poznań, Poland, e-mail: jboc@up.poznan.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:
30.05.2011

Do cytowania – For citation:

Bocianowski J., Goszczurna T., 2011. Czy zróżnicowanie na poziomie genotypowym determinuje zróżnicowanie na poziomie fenotypowym linii podwojonych haploidów jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)? *Nauka Przyr. Technol.* 5, 6, #120.