

MARIA SURMA¹TADEUSZ ADAMSKI¹ZYGMUNT KACZMAREK¹STANISŁAW CZAJKA²¹ Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk, Poznań² Katedra Metod Matematycznych i Statystycznych, Akademia Rolnicza, Poznań

Zmienność cech ilościowych w populacjach linii DH i SSD jęczmienia*

Variability of quantitative traits in barley DH and SSD populations

W pracy przedstawiono porównanie populacji linii podwojonych haploidów otrzymanych z mieszańców F_1 (F_1DH) i F_2 (F_2DH) oraz linii uzyskanych techniką pojedynczego ziarna (SSD). W części teoretycznej wykazano, że częstość rekombinantów w liniach F_1DH , F_2DH i SSD jest taka sama jedynie w przypadku braku sprzężeń między genami warunkującymi daną cechę ilościową. Przy występowaniu sprzężeń częstość ta jest najmniejsza w populacji F_1DH , największa zaś w SSD. Ma to wpływ na kształtowanie się oczekiwanych wartości średnich i wariancji tych populacji; są one różne w zależności od wielkości współczynnika rekombinacji oraz typu sprzężenia. Jako przykład podano wyniki obserwacji linii F_1DH , F_2DH i SSD ($F_{6/8}$) jęczmienia pod względem wybranych cech ilościowych (długość źdźbła i kłosa, średnica źdźbła, masa ziarna z kłosa, masa 1000 ziaren). Stwierdzono, że z wyjątkiem długości kłosa badane populacje nie różniły się istotnie pod względem średnich wartości analizowanych cech. Zmienność linii SSD okazała się istotnie większa od zmienności linii F_1DH w odniesieniu do masy ziarna z kłosa oraz średnicy źdźbła, co sugeruje, że geny warunkujące te cechy są sprzężone.

Słowa kluczowe: cechy ilościowe, jęczmień, linie SSD, podwojone haploidy, sprzężenia

The paper presents a comparison of doubled haploid populations derived from F_1 (F_1DH) and F_2 (F_2DH) hybrids with a population obtained by a single seed descent (SSD) method. It has been shown based on theoretical assumptions that the frequency of recombinants in F_1DH , F_2DH and SSD populations is the same only when no linkage exists between genes determining a certain quantitative trait. In the case of the presence of linkage, this frequency is lowest in F_1DH , and highest in SSD populations. The presence of linkage has an effect on expected means and variances for these populations namely the populations differ depending on both the value of recombination coefficient and on a linkage phase. As an example, the results of analysis of selected metrical traits (stem and spike length, stem diameter, grain weight per spike, 1000 grains weight) observed in F_1DH , F_2DH and SSD barley lines have been presented. It was found that the populations did not differ significantly in the mean values for observed traits except spike length. The variance of SSD lines appeared to be

* Praca wykonana w ramach projektu KBN nr 5 PO6A 017-17

significantly higher than that for F₁DH lines for grain weight per spike and stem diameter, which suggests that the genes controlling these traits are linked.

Key words: barley, doubled haploids, linkage, quantitative traits, SSD lines

WSTĘP

W hodowli roślin samopylnych istotnym zagadnieniem jest uzyskanie w krótkim czasie homozygotycznych linii z mieszańców wczesnych pokoleń. U jęczmienia, zarówno w badaniach genetycznych, jak i w pracach hodowlanych stosowane są najczęściej dwie metody, a mianowicie haploidyżacja mieszańców i uzyskiwanie tą drogą linii podwojonych haploidów (DH) oraz metoda pojedynczego ziarna (SSD) (Jinks i Pooni, 1976; Snape, 1976; Choo i in., 1982; Bjørnstad i in., 1993). Technika SSD polega na tym, że w pokoleniu F₂ z każdej rośliny wybiera się losowo jedno ziarno, z którego otrzymuje się roślinę F₃. Podobnie postępuje się w następnych pokoleniach, aż do F₅ lub F₆, kiedy zbiera się wszystkie nasiona z rośliny. Potomstwo pojedynczej rośliny stanowi linię SSD (Goulden, 1939). Wprawdzie obie metody, to jest system DH i SSD pozwalają uzyskać homozygotyczne linie w stosunkowo krótkim czasie, to metodą DH otrzymuje się formy homozygotyczne we wszystkich *loci*, natomiast linie wyprowadzone metodą SSD mogą zawierać tzw. resztkową heterozygotyczność (na przykład w odniesieniu do jednego *locus* pokoleniu F₆ procent osobników homozygotycznych wynosi 96,9). Korzyścią wynikającą z zastosowania techniki SSD jest większe prawdopodobieństwo otrzymania korzystnych rekombinantów związane z faktem „wykorzystania” w procesie ich otrzymywania 5–6 rund crossing-over, podczas gdy w przypadku linii F₁DH i F₂DH — jedynie 1–2 rund.

W niniejszej pracy przedstawiono, jak zmieniają się wartości oczekiwane średnich i wariancji linii F₁DH, F₂DH i SSD w zależności od typu sprzężenia oraz wielkości współczynnika rekombinacji. Zaprezentowano także wyniki doświadczenia z liniami F₁DH, F₂DH i SSD jęczmienia, mającego na celu porównanie średnich oraz wariancji wybranych cech źdźbła i kłosa.

Częstość rekombinantów

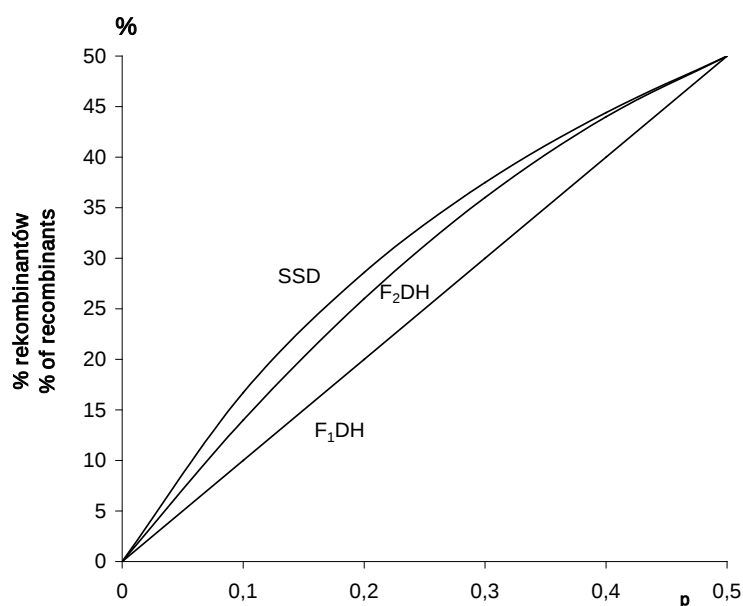
W tabeli 1 podano częstość genotypów występujących w populacjach linii F₁DH, F₂DH i SSD w przypadku jednej pary genów sprzężonych u form rodzicielskich w fazie *cis* lub *trans*.

Tabela 1

Częstości genotypów w populacjach linii F₁DH, F₂DH i SSD
Frequency of genotypes in populations of F₁DH, F₂DH and SSD lines

Genotyp Genotype	F ₁ DH		F ₂ DH		SSD	
	<i>cis</i> coupling	<i>trans</i> repulsion	<i>cis</i> coupling	<i>trans</i> repulsion	<i>cis</i> coupling	<i>trans</i> repulsion
AABB	$\frac{1}{2}(1-p)$	$\frac{1}{2}p$	$\frac{1}{4}[(1-p)(1-2p)+1]$	$\frac{1}{4}p[2+(1-2p)]$	$1/[2(1+2p)]$	$p/(1+2p)$
AAbb	$\frac{1}{2}p$	$\frac{1}{2}(1-p)$	$\frac{1}{4}p[2+(1-2p)]$	$\frac{1}{4}[(1-p)(1-2p)+1]$	$p/(1+2p)$	$1/[2(1+2p)]$
aaBB	$\frac{1}{2}p$	$\frac{1}{2}(1-p)$	$\frac{1}{4}p[2+(1-2p)]$	$\frac{1}{4}[(1-p)(1-2p)+1]$	$p/(1+2p)$	$1/[2(1+2p)]$
aabb	$\frac{1}{2}(1-p)$	$\frac{1}{2}p$	$\frac{1}{4}[(1-p)(1-2p)+1]$	$\frac{1}{4}p[2+(1-2p)]$	$1/[2(1+2p)]$	$p/(1+2p)$

Można zauważyć, że jeśli współczynnik rekombinacji p między dwoma genami A - i B - jest równy 0,5 (brak sprzężeń), częstość poszczególnych genotypów w populacjach F_1DH , F_2DH i SSD jest jednakowa i wynosi $\frac{1}{4}$. W populacji linii F_1DH częstość rekombinantów (tj. genotypów $AAbb$ i $aaBB$ przy sprzężeniu *cis* oraz $AABB$ i $aabb$ przy *trans*) jest najniższa i równa współczynnikowi rekombinacji p . W populacjach F_2DH i SSD częstości te są większe, co wyraźnie widać na rysunku 1, przedstawiającym procent linii o zrekombinowanym układzie genów w zależności od wielkości współczynnika rekombinacji.



Rys. 1. Procent rekombinantów w populacjach linii F_1DH , F_2DH i SSD w zależności od współczynnika rekombinacji (p)

Fig. 1. Percentage of recombinants in F_1DH , F_2DH and SSD populations depending on a coefficient of recombination (p)

Średnie i wariancje populacji

Oczekiwane średnie populacji linii F_1DH , F_2DH i SSD w przypadku występowania sprzężeń między parą genów A - i B - są następujące:

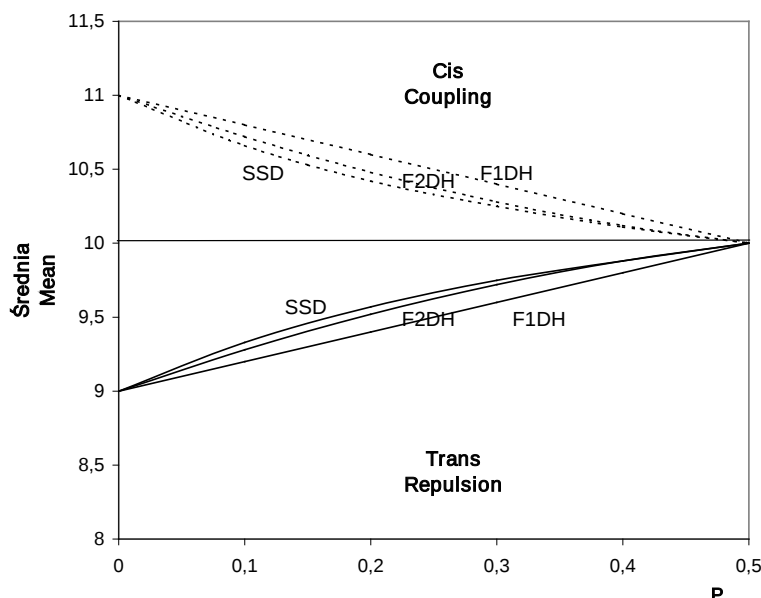
$$\mu_{F_1DH} = m \pm (1 - 2p) i_{ab},$$

$$\mu_{F_2DH} = m \pm (1 - p)(1 - 2p) i_{ab},$$

$$\mu_{SSD} = m \pm (1 - 2p) i_{ab} / (1 + 2p),$$

gdzie m jest średnią niezależną od segregujących genów (w zapisie F_∞ równa jest średniej wszystkich homozygot, w tym wypadku średniej genotypów $AABB$, $aaBB$, $AAbb$ i $aabb$), i_{ab} jest efektem współdziałania *loci* A - i B -. Znak $\pm$ oznacza „+” dla sprzężenia w fazie *cis* oraz „-” dla *trans*. Zależność średnich dla badanych populacji od współczynnika rekombinacji dla obu typów sprzężeń przedstawiono na rysunku 2. Łatwo

zauważyć, że zarówno przy całkowitym sprzężeniu ($p = 0$), jak i przy braku sprzężeń ($p = 0,5$) średnie tych populacji są równe. Generalnie występowanie sprzężenia typu cis zwiększa średnie wszystkich analizowanych populacji, natomiast sprzężenie w układzie trans powoduje ich obniżenie. Ponadto w przypadku sprzężenia cis najwyższą średnią mają linie F_1DH , zaś najniższą linie SSD. W układzie trans sytuacja jest odwrotna: najniższe wartości przybierają średnie linii F_1DH , najwyższe — linii SSD.



Rys. 2. Średnie populacji linii F_1DH , F_2DH i SSD w zależności od współczynnika rekombinacji (p)
Fig. 2. Means for F_1DH , F_2DH and SSD populations depending on a coefficient of recombination (p)

Wariancje populacji są następującej postaci:

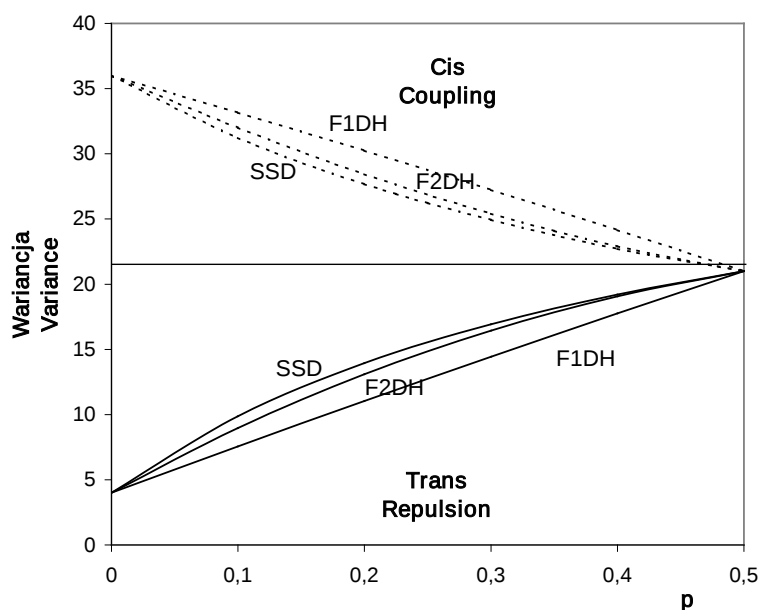
$$\sigma_{F_1DH}^2 = d_a^2 + d_b^2 + i_{ab}^2 - (1 - 2p)^2 i_{ab}^2 \pm 2(1 - 2p) d_a d_b,$$

$$\sigma_{F_2DH}^2 = d_a^2 + d_b^2 + i_{ab}^2 - (1 - p)^2 (1 - 2p)^2 i_{ab}^2 \pm 2(1 - p)(1 - 2p) d_a d_b,$$

$$\sigma_{SSD}^2 = d_a^2 + d_b^2 + i_{ab}^2 + \{[8p - (1 + 2p)^2]/(1 + 2p)^2\} i_{ab}^2 \pm [2(1 - 2p)/(1 + 2p)] d_a d_b.$$

Podobnie jak w przypadku średnich, wariancje badanych populacji są sobie równe, gdy $p = 0$ i $p = 0,5$. Można zauważyć, że przy całkowitym sprzężeniu efekty nieallelicznej interakcji są równe zero, a efekty genów A - i B - są takie, jak efekt pojedynczego genu: $d_a^2 + d_b^2 \pm 2 d_a d_b = (d_a \pm d_b)^2$. Przy braku sprzężeń wariancje populacji linii F_1DH , F_2DH i SSD są równe sumie kwadratów efektów addytywnych genów A - i B - oraz kwadratu efektu ich współdziałania: $d_a^2 + d_b^2 + i_{ab}^2$.

Z rysunku 3 wynika, że przy sprzężeniu typu cis wariancja linii F_1DH jest wyższa od wariancji linii F_2DH i SSD, natomiast w wypadku sprzężenia w układzie trans najwyższą wariancję wykazują linie SSD.



Rys. 3. Wariancje populacji linii F_1DH , F_2DH i SSD w zależności od współczynnika rekombinacji (p)
 Fig. 3. Variances for F_1DH , F_2DH and SSD populations depending on a coefficient of recombination (p)

Przykład

W doświadczeniu polowym badano 30 linii F_1DH , 100 linii F_2DH oraz 100 linii SSD ($F_{6/8}$) uzyskanych z mieszańców Roland $\times$ Apex. Doświadczenie założono w układzie całkowicie losowym w trzech powtórzeniach. Nasiona wysiewano na poletkach o powierzchni 2 m^2 w ilości 330 ziaren na 1 m^2 . Na 25 losowo wybranych roślinach z każdego poletka analizowano wybrane cechy ilościowe źdźbła i kłosa. Dla obserwowanych cech w poszczególnych populacjach obliczono wartości średnie oraz wariancje, a następnie testowano istotność różnic między średnimi i wariancjami badanych populacji.

W tabeli 2 podano średnie wartości analizowanych cech oraz wyniki testowania różnic między średnimi dla poszczególnych populacji. Średnia długość i średnica źdźbła, a także masa ziarna z kłosa i masa 1000 ziaren były podobne we wszystkich trzech badanych populacjach. Istotne różnice między średnimi stwierdzono tylko dla długości kłosa; w populacji linii F_1DH była ona statystycznie większa niż w liniach F_2DH i SSD. Rozpiętość wartości tych cech w poszczególnych populacjach była znaczna i na ogół podobna, na przykład w długości źdźbła wynosiła około 30 cm, w masie 1000 ziaren około 12 g. Porównanie wariancji badanych populacji przedstawiono w tabeli 3. Dla długości kłosa i źdźbła były one statystycznie jednakowe. W przypadku średnicy źdźbła i masy ziarna z kłosa wariancja F_1DH była istotnie większa od wariancji linii SSD. Również dla masy 1000 ziaren wariancja F_1DH była najwyższa, jednakże statystycznie nie różniła się istotnie od wariancji F_2DH i SSD. Istotne różnice między wariancjami sugerują, iż geny warunkujące średnicę źdźbła oraz masę ziarna z kłosa mogą być sprzężone.

Tabela 2

Średnie wartości badanych cech w populacjach linii F₁DH, F₂DH i SSD jęczmienia oraz wyniki testowania istotności różnic między średnimi

Means for traits studied in F₁DH, F₂DH and SSD populations of barley and results of testing significance of differences between means

Cechy Traits	Wartości średnie (min. — maks.) Mean values (min. — max.)			Istotności różnic między średnimi Significance of differences between means		
	F ₁ DH	F ₂ DH	SSD	F ₁ DH v F ₂ DH	F ₁ DH v SSD	F ₂ DH v SSD
Długość kłosa (cm) Spike length (cm)	7,38 (6,22–8,32)	7,20 (6,42–8,85)	7,23 (6,47–8,74)	*	*	ns
Długość źdźbła (cm) Stem length (cm)	71,14 (52,43–82,61)	70,48 (53,95–82,77)	71,60 (56,83–82,86)	ns	ns	ns
Średnica źdźbła (mm) Stem diameter (mm)	2,89 (2,33–3,16)	2,90 (2,23–3,22)	2,93 (2,64–3,33)	ns	ns	ns
Masa ziarna z kłosa (g) Grain weight per spike (g)	0,98 (0,77–1,18)	0,99 (0,83–1,19)	0,97 (0,82–1,10)	ns	ns	ns
Masa 1000 ziaren (g) 1000 grain weight (g)	47,82 (41,19–53,00)	48,01 (40,80–52,08)	47,00 (40,94–51,86)	ns	ns	ns

*P < 0,05

ns — Nieistotne; Not significant

Tabela 3

Wariancje badanych cech w populacjach linii F₁DH, F₂DH i SSD jęczmienia oraz wyniki testowania hipotezy o równości wariancji

Variances for traits studied in F₁DH, F₂DH and SSD population of barley

Cechy Traits	Wariancja Variance			Testowanie równości wariancji F-test for hypothesis		
	σ^2_{F1DH}	σ^2_{F2DH}	σ^2_{SSD}	$\sigma^2_{F1DH} = \sigma^2_{F2DH}$	$\sigma^2_{F1DH} = \sigma^2_{SSD}$	$\sigma^2_{F2DH} = \sigma^2_{SSD}$
Długość kłosa (cm) Spike length (cm)	0,820	0,581	0,623	1,411	1,316	1,072
Długość źdźbła (cm) Stem length (cm)	117,559	94,636	82,643	1,242	1,422	1,145
Średnica źdźbła (mm) Stem diameter (mm)	0,0981	0,0691	0,0549	1,420	1,787*	1,259
Masa ziarna z kłosa (g) Grain weight per spike (g)	0,0239	0,0170	0,0122	1,406	1,959*	1,393
Masa 1000 ziaren (g) 1000 grain weight (g)	21,985	16,874	15,098	1,303	1,456	1,088

*P < 0,05

ns — Nieistotne; Not significant

WNIOSKI

1. Wartości oczekiwane średnich populacji linii F₁DH, F₂DH i SSD oraz ich wariancji są jednakowe, gdy geny warunkujące badane cechy ilościowe dziedziczą się niezależnie.
2. W przypadku występowania sprzężeń, zarówno średnie jak i wariancje populacji F₁DH, F₂DH i SSD są różne, przy czym zarówno wielkość tych różnic, jak i ich kierunek zależy od typu sprzężeń; wariancja linii SSD jest większa od wariancji linii

F₁DH i F₂DH przy sprzężeniach typu trans, a mniejsza w przypadku sprzężenia genów w układzie cis.

3. Porównanie średnich i wariancji linii DH i SSD może być wykorzystane w badaniach nad występowaniem sprzężeń genów kontrolujących cechy ilościowe.

LITERATURA

- Bjørnstad A., Skinnes H., Thoresen K. 1993. Comparison between doubled haploid lines produced by anther culture, the *Hordeum bulbosum*-method and lines produced by single seed descent in barley crosses. *Euphytica* 66: 135 — 144.
- Choo T. M., Reinbergs E., Park S. J. 1982. Comparison of frequency distributions of doubled haploid and single seed descent lines in barley. *Theor. Appl. Genet.* 61: 215 — 218.
- Goulden C. H. 1939. Problems in plant selection. In: *Proc. Seventh Genet. Cong.* Cambridge University Press: 132 — 133.
- Jinks J. L., Pooni H. S. 1976. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. *Heredity* 36: 253 — 266.
- Snape J. W. 1976. A theoretical comparison of diploised haploid and single seed descent populations. *Heredity* 36: 275 — 277.