

**Agrovoc descriptors:** zea mays; land varieties; plant population; gene banks; genetic markers; plant anatomy; crossbreds; random mating; kernels; colour

**Agris category codes:** F30, F40, F50

University of Ljubljana  
Biotechnical Faculty  
Department of Agronomy

COBISS koda: 1.0

## Ocena dveh različnih skupin slovenskih populacij koruze s pomočjo morfoloških lastnosti in *Hbr* (MITE) markerjev

Ludvik ROZMAN<sup>1</sup>, Tatjana KAVAR<sup>2</sup>, Vladimir MEGLIČ<sup>2</sup>

Delo je prispelo 5. aprila 2007, sprejeto 20. junija 2007.

Received: April 5, 2007; accepted: June 20, 2007.

### IZVLEČEK

Analizirali smo dve skupini slovenskih populacij koruze iz genske banke Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. V prvo skupino smo uvrstili enajst populacij koruze iz Bohinja (B1-B9 in B11-B12), v drugo štirinajst štajerskih populacij, z okolice Vojnika in Laškega (Š1-Š14). Petintrideset morfoloških lastnosti rastlin, storžev in zrnja smo izvedli v skladu z mednarodnimi deskriptorji IPGRI v času rastle dobe na polju in v laboratoriju. Genetski opis je temeljil na 161 *Heartbreaker* (*Hbr*) markerjih, pri čemer je bila analiza izvedena na skupnih vzorcih DNA, po 25 rastlin iz vsake populacije. Populacije iz Bohinja so se na splošno dobro razlikovale od štajerskih populacij, tako po morfoloških lastnostih kot na osnovi genetskih markerjev. Izjemi sta le populaciji B1 in B8, ki sta po morfoloških znakih še najbolj podobni štajerskim populacijam. Glede na posamezne morfološke lastnosti B1 odstopa od drugih bohinjskih populacij le po barvi zrnja, ki je ob brezbarvnem perikarpu pogojena z barvo alevrona. Je edina bohinjka z rumenim zrnjem, vse ostale bohinjske populacije imajo bakreno barvo zrnja, medtem ko imajo štajerske populacije rumeno ali belo zrnje. Glede na vse analize, še posebej glede na prisotnost/odsotnost *Hbr* elementov ter njihove frekvence v populacijah, lahko kljub nekaterim podobnostim med posameznimi populacijami trdimo, da gre za različne populacije, čeprav nekatere izhajajo iz lokacij, ki so si geografsko zelo blizu. Torej so posamezni pridelovalci s svojim vzdrževanjem in ponovno setvijo lastnega semena uspeli obdržati karakteristične lastnosti svoje populacije, s tem da so preprečili nekontrolirano križanje z drugimi populacijami.

**Ključne besede:** *Zea mays* / populacije / IPGRI deskriptorji / morfologija / *Hbr* markerji / genetsko razmerje

<sup>1</sup> Univ. v Ljubljani, Biotehniška fak., Odd. za agronomijo, Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana, Slovenija, e-pošta: [ludvik.rozman@bf.uni-lj.si](mailto:ludvik.rozman@bf.uni-lj.si).

<sup>2</sup> Kmetijski inštitut Slovenije, Odd. za poljedelstvo in semenarstvo, Hacquetova 17, SI-1000 Ljubljana, Slovenija

## ABSTRACT

EVALUATION OF TWO DIFFERENT GROUPS OF SLOVENIAN MAIZE POPULATIONS USING MORPHOLOGICAL TRAITS AND *Hbr* (MITE) MARKERS

Two different groups of Slovenian maize populations from the germplasm bank at the Agronomy Department of Biotechnical Faculty in Ljubljana were analyzed. The first group included eleven landraces from Bohinj (B1-B9 and B11-B12) and the second one included 14 landraces from Štajerska region, from the surroundings of Vojnik and Laško (Š1-Š14). Thirty-five morphological characteristics of plants, ears and kernels were described using IPGRI (International Plant Genetic Resource Institute) descriptors during the vegetation period on a field and in a laboratory. Genetic characterization was performed on DNA bulks from 25 plants per population by genotyping 161 *Heartbreaker* (*Hbr*) markers. Generally, according to the genetic and morphological data, populations from Bohinj are clearly differentiated from populations from Štajerska region. The only exceptions are populations B1 and B8, which are similar to Štajerska populations, according to the morphological traits. B1 differs from other Bohinj populations by color of kernels, which is yellow due to the colorless pericarp and yellow aleuron. Kernels of all other Bohinj population had brown color, while Štajerska populations had yellow or white kernels. Analysis, especially presence/absence of *Hbr* elements and their population frequencies, suggests that all populations are separated, although some of them are geographically closely located. It seems that farmers have been able to maintain their landraces by repeat sowing of their own seeds and by preventing uncontrolled crossing with other populations.

**Key words:** *Zea mays* / populations / IPGRI descriptors / morphology / *Hbr* markers / genetic relationship

## UVOD

Genetska raznolikost žlahtniteljskega materiala je eden od najpomembnejših dejavnikov, ki vplivajo na uspeh žlahtnjenja rastlin. Pri koruzi je heterotičen učinek, ki se izkorišča v hibridih F1 generacije, odvisen od genetske raznolikosti starševskih linij, kar sta ugotovila že East (1908) in Shull (1908). Ker se v intenzivnih žlahtniteljskih programih kot starševske linije večinoma uporablja elitne linije, prihaja do oženja genetske raznolikosti, kar lahko privede do izgube določenih pomembnih genotipov. Za ugotavljanje raznolikosti poleg morfoloških lastnosti lahko uporabljamo še različne DNK markerje, npr. mikrosatelite, AFLP in pri koruzi tudi *Hbr* markerje. Slednje so razvili Casa in sod. (2000) in so specifični za koruzo, visoko polimorfni in enakomerno razporejeni po celem genomu (Casa in sod., 2002). Temeljijo na prisotnosti/odsotnosti miniaturnih transponirajočih elementov z invertiranimi ponavljajočimi sekvencami (MITE) iz družine *Heartbreaker* na določeni lokaciji v genomu. Tipiziramo jih s pomočjo tehnike *Hbr* prikaz, ki je podobna AFLP tehniki, le da je en začetni nukleotid zasidran v restriksijsko mesto encima *MseI*, drug pa v transponirajoči element (Casa in sod., 2000).

V genski banki koruze Oddelka za agronomijo na Biotehniški fakulteti v Ljubljani se ohranja več kot 516 genotipov koruze, od katerih je polovica večinoma slovenskih populacij, polovico pa zajemajo iz njih vzgojene bolj ali manj homozigotne linije (Rozman, 1998). V naši prejšnji raziskavi smo petnajst pomembnejših slovenskih populacij koruze ocenili s *Hbr* markerji (Kavar in sod., 2007). Vseh deset vzorcev iz iste populacije je imelo zelo podobne DNK profile, medtem ko so bile razlike med populacijami večje; z analizo AMOVA je bil delež variance, ki izhaja iz razlik med

populacijami ocenjen na 76,7%. Po pričakovanju, je od vseh populacij najbolj odstopala edina zobanka (beli zob), izmed trdink pa populacija štajerski dvanajsterec.

Ker so se *Hbr* markerji v prejšnji raziskavi (Kavar in sod., 2007) izkazali za primerne za karakterizacijo populacij koruze, smo jih tudi v tem delu, skupaj z morfološkim opisom (deskriptorji IPGRI), uporabili za oceno enajstih populacij z Bohinja in štirinajstih populacij s Štajerske. Namen je bil ugotoviti sorodnost tako med različnima skupinama populacij kot tudi med populacijami znotraj ene skupine, kar bi predstavljalo pomembno informacijo za načrtovanje učinkovitejše uporabe slovenske dednine koruze v žlahtnjenju.

## MATERIAL IN METODE

### Populacije koruze

V proučevanje smo vključili dve skupini populacij koruze iz genske banke koruze Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani. Prvo skupino predstavlja enajst populacij koruze, ki izhajajo od različnih pridelovalcev koruze iz Bohinja (B1-B9 in B11-B12). Drugo skupino pa predstavlja štirinajst štajerskih populacij iz okolice Vojnika in Laškega (Š1-Š14) (Pregl. 1). Populacije smo pridobili s terenskim nabiranjem vzorcev v letih 1986 do 1988 (bohinjske populacije) oz. v letih 1989 do 1990 (štajerske populacije).

Preglednica 1: Izvor proučevanih populacij.

Table 1: The origin of investigated populations.

Populacija	Kraj	Nadm. višina (m)
Population	Location	A.s.l. (m)
B1, B3, B7	Srednja vas	570
B8	Češnjica	615
B4, B5, B11	Studor	590
B2	Jereka	670
B6, B12	Stara Fužina	550
B9	Podjelje	800
Š1, Š2, Š4	Višnja vas	300
Š6	Polže	290
Š8	Hrenova – Strmec	290
Š10	Razdelj	290
Š13	Mačkovec – Laško	625
Š11, Š12	Olešče – Laško	480
Š3	Mala Breza	550
Š5, Š7, Š9	Breze – Šentrupert	570
Š14	Šentjur pri Celju	260

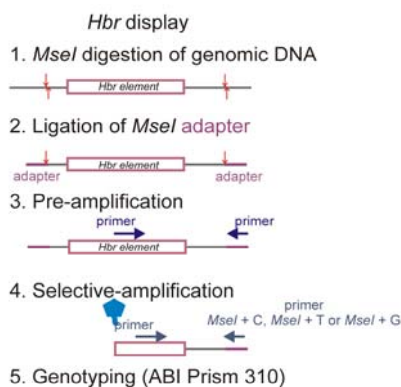
## Morfološko-agronomske lastnosti

Poljski poskus za opis morfoloških lastnosti proučevanih populacij je bil izveden na poskusnem polju Biotehniške fakultete na Centru za razvoj kmetijstva in podeželja v Jablah pri Mengšu. V času vegetacije so bile na polju v skladu z deskriptorji IPGRI-ja na 20 rastlinah opravljene meritve in opisi morfoloških lastnosti rastlin. Meritve in opisi storžev in zrnja teh rastlin so bile opravljene po spravilu, v laboratoriju Oddelka za agronomijo Biotehniške fakultete v Ljubljani.

Razlike med posameznimi rastlinami smo ocenili s koeficienti podobnosti, po metodi, ki jo je opisal Gower (1971), ker le-ta dovoljuje uporabo podatkov mešanega tipa. Podatke o 35 morfoloških lastnostih smo najprej porazdelili glede na tip podatkov v tri skupine: 21 lastnosti med podatke intervalnega tipa, sedem med podatke ordinalnega in sedem med nominalne (simetrične) podatke. Za izračun koeficienta podobnosti, PCA analizo in prikaz tridimenzionalnega grafa prvih treh glavnih komponent (Sl. 2) smo uporabili SAS V8 software (SAS Institute Inc.). Drugo PCA analizo (Sl. 3) smo izvedli na podlagi povprečnih vrednosti v populacijah za 21 kvantitativnih lastnosti.

## Genetski opis

Po en skupen DNK vzorec za vsako populacijo smo izolirali iz listov petindvajsetih rastlin koruze z Gen Elute Plant Genomic DNA Miniprep kitom (Sigma). *Hbr* prikaz smo izvedli po že opisani metodi (Casa in sod., 2000) (Sl. 1). Okrog 500 ng genomske DNA smo razrezali z restriktivnim encimom *MseI* - dve uri pri 65 °C v 20 µl reakciji, ki je vsebovala 2 x Tango pufer in 1 U *MseI* encima (Fermentas). Sledila je ligacija adapterjev (5'-GACGATGAGTCCTGAG in 5'-TACTCAGGACTCAT), z dodajanjem 5 µl mešanice, ki je vsebovala 1x ligacijski pufer, 25 pmol adapterjev in 0,5 U T4 DNA ligaze (Fermentas) ter inkubacija - tri ure pri 37 °C. Za pre-amplifikacijo smo uporabili začetna oligonukleotida: *MseI*+O (5'-GACGATGAG-TCCTGAGTAA) in *Hbr*-Int5-E (5'-GATTCTCCCCACAGCCAGATTC). Selektivno amplifikacijo smo izvedli s tremi kombinacijami začetnih oligonukleotidov: fluorescentno označen *Hbr*-Int5-F (5'-FAM-GAGCCAGATTTTCAGAAAAGCTG) z enim izmed treh selektivnih oligonukleotidov: *MseI*+C, *MseI*+G in *MseI*+T. Denaturirane PCR produkte smo ločili s kapilarno elektroforezo na avtomatskem sekvenatorju ABI PRISM 310 (PE Applied Biosystems), pri čemer je bil vsakemu vzorcu dodan velikostni standard GeneScan Rox 500 (Applied Biosystems).



Slika 1: Shema metode »*Hbr* prikaz« po Casa in sod., (2000). *Hbr* metoda je podobna metodi AFLP, le da je en začetni oligonukleotid zasidran v restriktivno mesto *MseI*, drug pa v transponirajoči element. 1. DNK razrežemo z restriktivnim encimom *MseI*. 2. Z ligacijo dodamo adapterje na restriktivno mesto za *MseI*. 3. Pre-amplifikacija. 4. Selektivna amplifikacija. 5. Tipizacija *Hbr* elementov s pomočjo avtomatskega sekvenatorja ABI Prism 310 (PE Applied Biosystems).

Figure 1: Sheme of the *Hbr* display technique (developed by Casa et al., 2000). *Hbr* display is the modification of the AFLP technique where the PCR products are derived from primers anchored in a restriction site (*i.e.* *MseI*) and a transposable element of maize MITE family *Heartbreaker* rather than in two restriction sites.

V tipizacijo smo vključili samo PCR produkte (*Hbr* elemente), ki niso bili problematični za tipizacijo. Zbrane podatke o višini vrha za posamezne PCR produkte smo standardizirali in jih uporabili za oceno pogostosti določenega *Hbr* elementa v posamezni populaciji. Na podlagi teh ocen smo s programi Seqboot, Gendist, Neighbor in Consense iz programskega paketa Phylip (Phylogeny Inference Package) verzija 3.6. (Felsenstein, 2005) izrisali drevo in z analizo "bootstrap" statistično ovrednotili topologijo drevesa. Drevo (Sl. 4) smo grafično predstavili s pomočjo programa TreeView verzija 1.6.6 (Page, 2001). S SAS V8 software (SAS Institute Inc.) smo na podlagi genetskih podatkov izračunali koeficiente podobnosti med populacijami po metodi Simratio, izvedli PCA analizo in grafično predstavili rezultate s tridimenzionalnim grafom prvih treh glavnih komponent (Sl. 5).

## REZULTATI IN RAZPRAVA

### Morfološko-agronomske lastnosti

V proučevanje je bilo vključenih 35 morfoloških lastnosti rastlin, storžev in zrnja, za katere smo v skladu z deskriptorji IPGRI-ja opravili ustrezne meritve in opise. V preglednici 2 (za populacije iz Bohinja) in v preglednici 3 (za populacije iz Štajerske) je prikazan samo del podatkov za petnajst najpomembnejših lastnosti.

Na podlagi vseh zbranih morfoloških podatkov smo izračunali koeficiente podobnosti (Gower, 1971) med posameznimi rastlinami in rezultate grafično predstavili s tridimenzionalnim grafom (Sl. 2). Kaže, da se populacije iz Bohinja (na sl. 2 so označene s temnejšimi (tiskana verzija) oz. črnimi in modrimi znaki (elektronska verzija – dostopna na domači spletni strani <http://aas.bf.uni-lj.si>) na splošno dobro razlikujejo od štajerskih populacij (na sl. 2 so označene s svetlejšimi (tiskana verzija) oz. rdečimi in zelenimi znaki (elektronska verzija)). Izjemi sta le populaciji B1 in B8, ki sta po morfoloških znakih še najbolj podobni štajerskim populacijam. Glede na posamezne morfološke lastnosti B1 odstopa od bohinjskih populacij le po barvi zrnja, ki je ob brezbarvnem perikarpu pogojena z barvo alevrona, saj je edina bohinjka z rumenim zrnjem (Pregl. 2). Vse ostale bohinjske populacije imajo bakreno barvo zrnja, medtem ko imajo štajerske populacije rumeno ali belo zrnje. Populacija B11 je po morfoloških znakih zelo neizenačena, dve rastlini sta blizu oz. med štajerskimi populacijami, vse ostale rastline pa so razpršene med bohinjskimi populacijami (Sl. 2).

Na podlagi 21 kvantitativnih morfoloških lastnosti, od populacij iz Bohinja najbolj odstopata populaciji B9 in B4; ostale tvorijo dve večji skupini: prvo skupino populacije B1, B2, B5 in B12, drugo pa B3, B6, B7, B8 in B11 (Sl. 3). Štajerske populacije se med seboj razlikujejo predvsem glede na prvo in tretjo komponento (Prin1 in Prin3). Zelo podobne so si le Š10 in Š11 ter Š12 in Š13. Sicer pa se obe skupini populacij med sabo razlikujeta predvsem glede na drugo komponento.

Preglednica 2: Nekatere morfološke lastnosti enajstih populacij koruze iz Bohinja (4.1.4 – višina prve stranske metlice, 4.1.5 – višina vrhnjega storža, 4.1.7 – število listov nad storžem, 4.1.13 – % primarni (% sekundarni) tip metlice, 4.2.4 – število vrst zrnja, 6.1.1 – skupno število listov, 6.1.2 – dolžina lista ob storžu, 6.1.3 – širina lista ob storžu, 6.1.8 – dolžina metlice, 6.2.1 – število storžev na rastlino, 6.2.2 – dolžina storža, 6.2.4 – premer storža, 6.2.10 – oblika storža, 4.3.2 – barva zrna, 6.3.6 – barva alevrona).

Table 2: Some of the morphological traits of eleven maize populations from Bohinj (4.1.4 – Plant height, 4.1.5 – Uppermost ear height, 4.1.7 – No. of leaves above the uppermost ear-including ear leaf, 4.1.13 – % primary (% secondary) tassel type, 4.2.4 – No. of kernel rows, 6.1.1 – No. of leaves per plant, 6.1.2 – Leaf length, 6.1.3 – Leaf width, 6.1.8 – Tassel length, 6.2.1 – No. of ears per plant, 6.2.2 – Ear length, 6.2.4 – Ear diameter, 6.2.10 – Shape of ear, 4.3.2 – Kernel color, 6.3.6 – Aleurone color).

IPGRI	4.1.4	4.1.5	4.1.7	4.1.13	4.2.4	6.1.1	6.1.2	6.1.3	6.1.8	6.2.1	6.2.2	6.2.4	6.2.10 <sup>a</sup>	4.3.2 <sup>b</sup>	6.3.6 <sup>c</sup>
B1	163 ±16	60,1 ±8,8	5,7 ±0,8	0,28 (0,72)	14,4 ±2,3	8,6 ±1,2	78,4 ±6,3	9,4 ±0,9	39,1 ±4,3	1,3 ±0,5	17,1 ±1,4	4,4 ±0,2	2	2	1
B2	184 ±14	71,8 ±8,9	5,4 ±0,5	0,65 (0,35)	12,9 ±1,5	8,5 ±0,8	89,7 ±7,3	8,9 ±0,9	48,6 ±9,0	1,0 ±0,0	17,0 ±2,2	4,3 ±0,4	2-1	5	2
B3	186 ±12	72,2 ±14,1	6,5 ±0,9	0,1 (0,9)	12,7 ±1,7	9,6 ±1,2	85,3 ±5,5	8,6 ±0,8	44,6 ±2,9	1,2 ±0,4	15,8 ±1,6	4,4 ±0,2	1	5	2
B4	205 ±15	81,2 ±13,9	6,1 ±0,6	0,0 (1,0)	12,3 ±1,2	9,7 ±0,9	82,9 ±6,6	8,7 ±1,1	42,0 ±4,6	1,2 ±0,4	16,8 ±1,6	4,4 ±0,3	2-3-1	5-9	2
B5	171 ±15	55,4 ±13,6	6,7 ±0,7	0,84 (0,16)	10,7 ±1,2	10,0 ±0,9	77,6 ±5,3	8,8 ±0,8	39,5 ±5,2	1,1 ±0,2	18,5 ±2,8	4,0 ±0,4	2-1	5	2
B6	188 ±11	71,8 ±10,9	5,8 ±0,9	0,65 (0,35)	12,4 ±1,7	9,2 ±0,9	81,3 ±5,7	8,8 ±0,8	42,9 ±7,1	1,0 ±0,0	17,1 ±2,2	4,5 ±0,3	1-2	5	2
B7	185 ±13	59,4 ±11,3	6,9 ±0,6	0,25 (0,75)	11,8 ±1,3	9,4 ±0,8	91,7 ±5,2	9,0 ±0,9	43,0 ±4,0	1,0 ±0,0	18,2 ±1,6	4,3 ±0,2	1-2	5	2
B8	181 ±16	66,4 ±9,1	6,3 ±0,6	0,05 (0,95)	11,4 ±1,5	8,9 ±0,8	86,0 ±5,6	9,7 ±0,9	43,3 ±7,9	1,0 ±0,0	19,9 ±2,3	4,2 ±0,3	2-1	5-2-6	1
B9	138 ±19	47,0 ±10,3	5,6 ±0,8	0,42 (0,58)	11,9 ±1,9	8,7 ±1,1	71,9 ±6,3	9,6 ±0,8	37,6 ±5,1	1,4 ±0,5	14,8 ±2,3	3,9 ±0,4	1	3-5	2
B11	178 ±18	61,9 ±14,2	6,3 ±1,1	0,5 (0,5)	12,6 ±2,2	9,1 ±1,1	83,5 ±6,7	9,1 ±0,9	42,5 ±5,8	1,1 ±0,3	19,9 ±2,2	4,1 ±0,3	1-2	5-2-3	2-1
B12	136 ±18	39,4 ±6,2	6,1 ±0,9	0,29 (0,71)	12,1 ±1,4	8,5 ±0,9	80,2 ±7,3	9,3 ±1,0	39,9 ±6,2	1,4 ±0,5	16,8 ±2,1	4,4 ±0,3	2	5	2

a – 1 – valjasta (cylindrical), 2 – valjasto-stožčasta (cylindrical-conical), 3 – stožčasta (conical), 4 – okrogla (round).

b – 1 – bela (white), 2 – rumena (yellow), 3 – vijolična (purple), 4 – pisana (variegated), 5 – rjava (brown), 6 – oranžna (orange), 7 – lisasta (mottled), 8 – bela kapica (white cap), 9 – rdeča (red).

c – 1 – brezbarvna (colourless), 2 – bronasta (bronze), 3 – rdeča (red), 4 – vijolična (purple), 5 – druga (other).

Preglednica 3: Nekatere morfološke lastnosti štirinajstih populacij koruze iz okolice Vojnika in Laškega (Š1-Š14) (4.1.4 – višina prve stranske metlice, 4.1.5 – višina vrhnjega storža 4.1.7 – število listov nad storžem, 4.1.13 – % primarni (% sekundarni) tip metlice, 4.2.4 – število vrst zrnja, 6.1.1 – skupno število listov, 6.1.2 – dolžina lista ob storžu, 6.1.3 – širina lista ob storžu, 6.1.8 – dolžina metlice, 6.2.1 – število storžev na rastlino, 6.2.2 – dolžina storža, 6.2.4 – premer storža, 6.2.10 – oblika storža, 4.3.2 – barva zrna, 6.3.6 – barva alevrona).

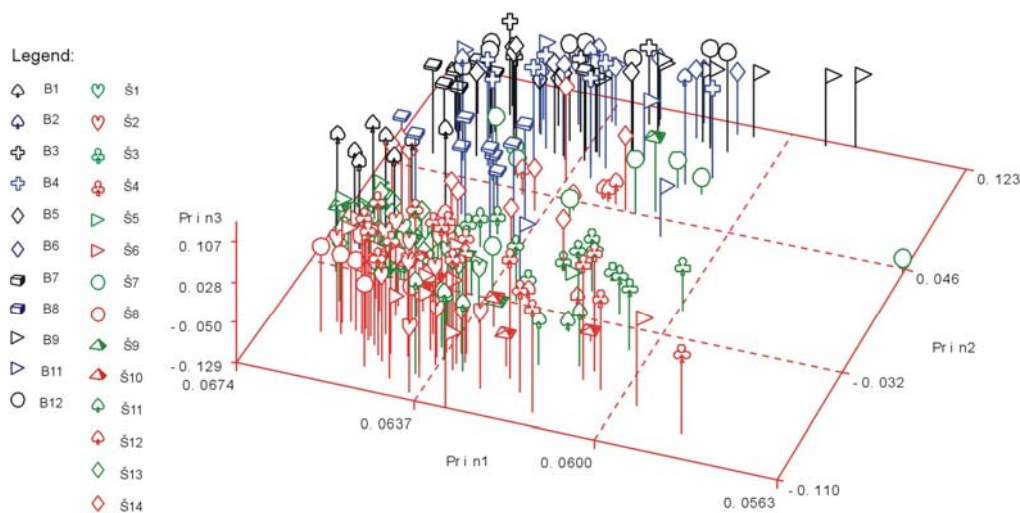
Table 3: Some of the morphological traits of fourteen maize populations from Vojnik and Laško surroundings (4.1.4 – Plant height, 4.1.5 – Uppermost ear height, 4.1.7 – No. of leaves above the uppermost ear-including ear leaf, 4.1.13 – % primary (% secondary) tassel type, 4.2.4 – No. of kernel rows, 6.1.1 – No. of leaves per plant, 6.1.2 – Leaf length, 6.1.3 – Leaf width, 6.1.8 – Tassel length, 6.2.1 – No. of ears per plant, 6.2.2 – Ear length, 6.2.4 – Ear diameter, 6.2.10 – Shape of ear, 4.3.2 – Kernel color, 6.3.6 – Aleurone color).

IPGR1	4.1.4	4.1.5	4.1.7	4.1.13	4.2.4	6.1.1	6.1.2	6.1.3	6.1.8	6.2.1	6.2.2	6.2.4	6.2.10 <sup>a</sup>	4.3.2 <sup>b</sup>	6.3.6 <sup>c</sup>
Š1	204 ±25	82,3 ±17,0	6,3 ±0,9	0,11 (0,89)	12,4 ±1,2	10,0 ±1,4	90,2 ±8,8	10,0 ±0,8	43,1 ±5,5	1,6 ±0,5	20,2 ±2,1	4,3 ±0,4	2-1	2	1
Š2	192 ±21	73,9 ±17,1	6,1 ±1,0	0,05 (0,95)	11,2 ±1,8	9,8 ±1,6	93,1 ±6,5	9,8 ±1,1	43,1 ±6,1	1,4 ±0,5	18,4 ±2,9	4,4 ±0,2	2-1	1	1
Š3	189 ±22	59,4 ±16,1	5,8 ±0,9	0,05 (0,95)	8,1 ±0,8	9,1 ±1,0	84,1 ±8,3	8,9 ±0,9	35,4 ±9,4	1,2 ±0,4	20,9 ±2,6	3,7 ±0,4	2-1	2	1
Š4	200 ±17	83,1 ±15,1	7,0 ±1,1	0,0 (1,0)	12,8 ±1,5	10,7 ±1,3	95,7 ±5,1	10,3 ±1,3	45,0 ±7,7	1,1 ±0,3	20,5 ±2,1	4,5 ±0,4	2	1	1
Š5	184 ±29	70,0 ±20,3	6,3 ±0,9	0,0 (1,0)	8,8 ±1,2	9,3 ±1,4	81,3 ±11,1	10,5 ±1,2	48,6 ±25,1	1,3 ±0,4	22,2 ±2,4	3,8 ±0,3	1-2	2-6	1
Š6	190 ±17	82,9 ±16,1	6,7 ±0,9	0,1 (0,9)	13,0 ±1,2	10,2 ±1,6	86,4 ±6,9	9,2 ±0,9	40,7 ±5,0	1,3 ±0,5	19,3 ±3,4	4,7 ±0,4	2	1-2	1
Š7	193 ±22	63,7 ±15,1	6,2 ±0,8	0,05 (0,95)	8,6 ±1,1	9,4 ±2,8	93,1 ±9,4	11,0 ±1,3	46,5 ±7,7	1,4 ±1,1	20,4 ±3,1	4,2 ±0,3	1-2	6-2	2-1
Š8	202 ±14	72,0 ±15,1	6,3 ±0,7	0,05 (0,95)	10,8 ±1,5	9,3 ±0,9	87,4 ±8,0	9,5 ±0,9	42,7 ±5,8	1,2 ±0,4	19,2 ±2,5	4,2 ±0,3	2-1	1-2	1
Š9	211 ±14	67,8 ±10,3	6,8 ±0,8	0,05 (0,95)	8,7 ±1,3	9,9 ±1,0	86,5 ±12,7	9,2 ±1,1	38,7 ±6,9	1,3 ±0,4	18,9 ±3,1	4,2 ±0,3	1-2	2	1
Š10	180 ±19	59,8 ±14,5	6,2 ±0,5	0,05 (0,95)	8,0 ±0,0	9,2 ±0,9	84,6 ±8,2	9,8 ±1,3	38,9 ±5,0	1,1 ±0,3	15,5 ±2,4	3,9 ±0,3	1-2	1	1
Š11	188 ±20	71,3 ±14,9	5,9 ±0,7	0,11 (0,89)	8,6 ±1,2	9,2 ±1,2	84,7 ±6,4	10,0 ±1,0	35,4 ±6,6	1,4 ±0,5	18,5 ±3,2	4,1 ±0,3	2-1	1-2	1
Š12	200 ±19	66,0 ±12,7	6,4 ±1,0	0,15 (0,85)	8,0 ±0,6	10,1 ±1,5	85,1 ±20,6	9,9 ±1,0	41,2 ±7,7	1,1 ±0,2	18,2 ±3,2	4,1 ±0,4	1	2-6	1-2
Š13	202 ±18	71,3 ±15,5	6,4 ±0,8	0,0 (1,0)	8,4 ±1,1	9,8 ±1,2	88,6 ±6,5	8,9 ±0,7	41,9 ±5,0	1,0 ±0,0	18,7 ±3,1	4,2 ±0,2	1-2	2	1
Š14	190 ±16	55,2 ±14,1	6,2 ±0,9	0,0 (1,0)	9,0 ±1,5	9,4 ±0,9	86,6 ±7,3	9,0 ±1,0	36,3 ±7,3	1,1 ±0,3	19,2 ±2,6	4,2 ±0,4	2-3	6	1-2

a – 1 – valjasta (cylindrical), 2 – valjasto-stožčasta (cylindrical-conical), 3 – stožčasta (conical), 4 – okrogla (round).

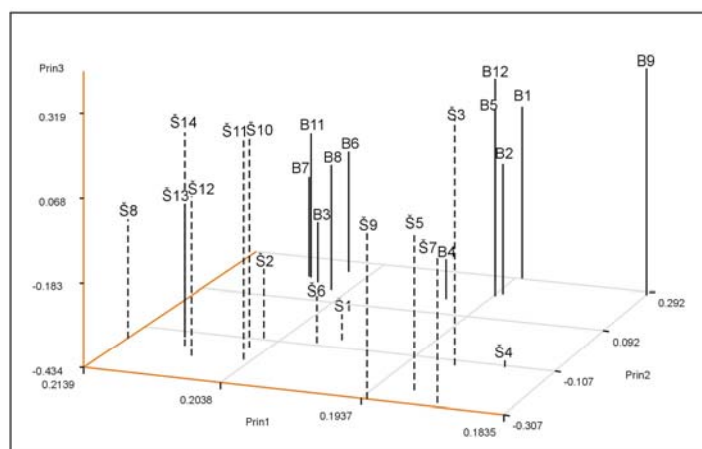
b – 1 – bela (white), 2 – rumena (yellow), 3 – vijolična (purple), 4 – pisana (variegated), 5 – rjava (brown), 6 – oranžna (orange), 7 – lisasta (mottled), 8 – bela kapica (white cap), 9 – rdeča (red).

c – 1 – brezbarvna (colourless), 2 – bronasta (bronze), 3 – rdeča (red), 4 – vijolična (purple), 5 – druga (other).



Slika 2: Odnosi med rastlinami iz 25 slovenskih populacij koruze na podlagi 35 morfoloških lastnosti.

Figure 2: Relationship among plants from 25 Slovenian maize populations based on 35 morphological traits.



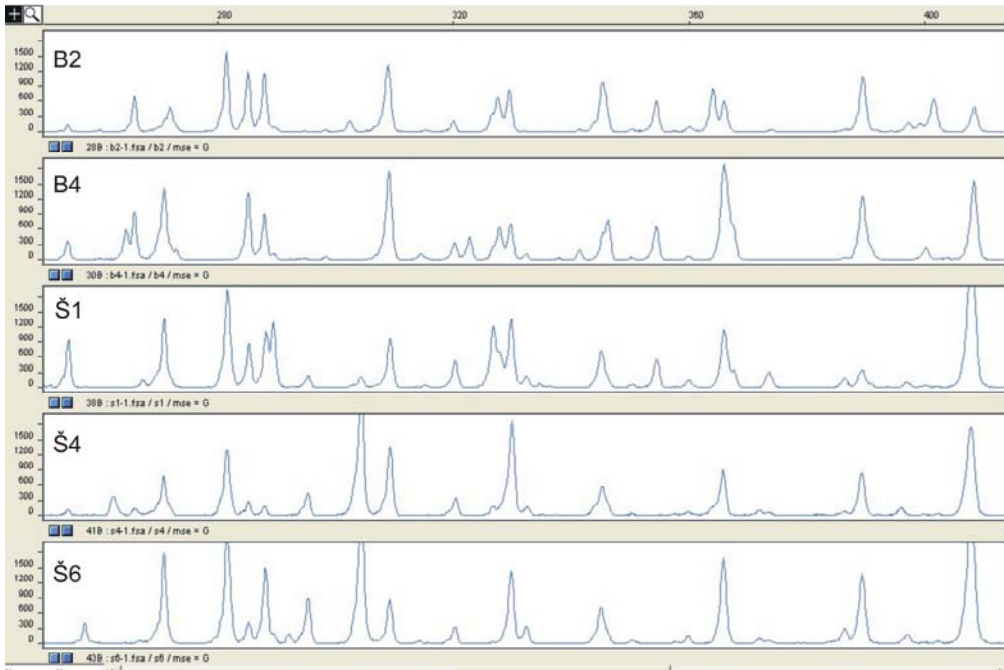
Slika 3: Odnosi med populacijami koruze na podlagi 21 kvantitativnih morfoloških lastnosti.

Figure 3: Relationship among Slovene maize populations based on 21 quantitative morphological traits.

### Genetski opis

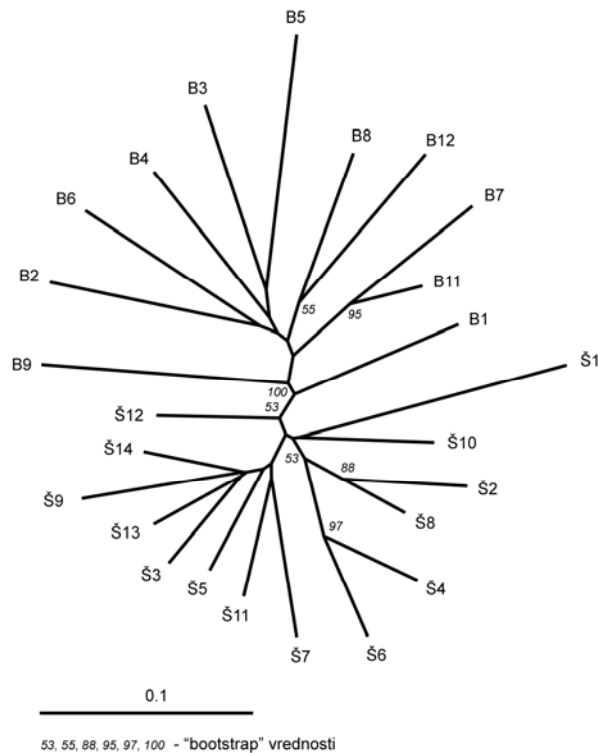
Populacije koruze smo genetsko opisali s 161 *Hbr* markerji (Sl. 4). Vsaka populacija je imela različno kombinacijo *Hbr* elementov. Razen štirih *Hbr* elementov, smo vse ostale zasledili v več kot eni populaciji. Precejšnje razlike med populacijami so bile tudi v pogostosti posameznih *Hbr* elementov.





Slika 4: Kratek odsek z DNK profili petih populacij. *Hbr* elementi z različnih lokacij v genomu se ločijo glede na različno dolžino PCR produktov.

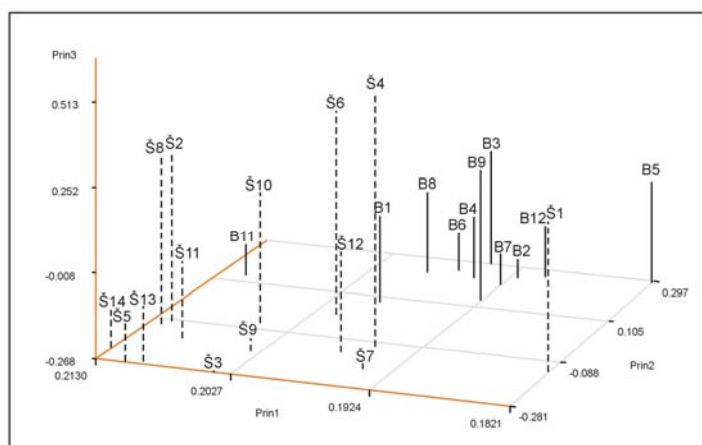
Figure 4: A short portion of DNA profiles of five populations. *Hbr* elements from different genome locations differed in PCR products length.



Slika 5: Odnosi med populacijami koruze na podlagi 161 *Hbr* markerjev predstavljeni z NJ drevesom.

Figure 5: NJ tree representing relationship among Slovene maize populations (based on 161 *Hbr* markers).

Kot je bilo za pričakovati že na podlagi morfoloških podatkov, se tudi na podlagi genetskih podatkov populacije iz Bohinja jasno ločijo od štajerskih populacij (Sl. 5, Sl. 6). Izmed štajerskih populacij genetsko še najbolj odstopa populacija Š1. Relativno blizu, glede na ostale populacije, sta si populaciji Š4 in Š6 ter populaciji Š2 in Š8. Blizu so si tudi populacije Š3, Š5, Š9, Š11, Š13 in Š14. Med bohinjskimi populacijami najbolj odstopa populacija B5 (Sl. 5, Sl. 6). Glede na prisotnost in pogostost istih *Hbr* elementov sta si najbolj podobni populaciji B7 in B11 (Sl. 5). Ti dve populaciji sta si podobni tudi po povprečnih kvantitativnih morfoloških lastnostih (Sl. 3). S PCA analizo 161 *Hbr* markerjev (Sl. 6) se B7 uvršča v dokaj homogeno skupino, ki jo tvori večina bohinjskih populacij, medtem ko od vseh bohinjških populacij nekoliko bolj odstopata B5 in B11.



Slika 6: Odnosi med populacijami korusa na podlagi 161 *Hbr* markerjev.  
Figure 6: PCA analysis representing relationship among Slovenian maize populations based on 161 *Hbr* markers.

Čeprav je tridimenzionalna razporeditev posameznih populacij s PCA analizo, prikazana na podlagi morfoloških lastnosti (Sl. 3) nekoliko drugačna od razporeditve na podlagi 161 *Hbr* markerjev (Sl. 6), rezultati obeh analiz kažejo na to, da se populacije iz Bohinja jasno razlikujejo od populacij iz Štajerske. Glede na vse analize, še posebej na prisotnost/odsotnost *Hbr* elementov na določeni lokaciji ter pogostnost pojavljanja posameznih *Hbr* elementov, lahko kljub nekaterim podobnostim med posameznimi populacijami trdimo, da gre za različne populacije, čeprav nekatere izhajajo iz lokacij, ki so si geografsko zelo blizu. Populacije B4, B5 in B11 ter Š1, Š2 in Š4 izhajajo iz enega kraja v Bohinju oz. na Štajerskem, a so od različnih pridelovalcev. Torej so posamezni pridelovalci s svojim vzdrževanjem in ponovno setvijo lastnega semena uspeli obdržati karakteristične lastnosti svoje populacije, s tem da so preprečili nekontrolirano skrižanje z drugimi populacijami.

## VIRI

Casa, A.M., Brouwer, C., Nagel, A., Wang, L., Zhang, Q., Kresovich, S., Wessler, S.R. 2000. The MITE family *Heartbreaker* (*Hbr*): Molecular markers in maize. *PNAS*, 97: 10083-10089.

- Casa, A.M., Mitchell, S.E., Smith, O.S., Register III, J.C., Wessler, S.R. 2002. Evaluation of *Hbr* (MITE) markers for assessment of genetic relationships among maize (*Zea mays* L.) inbred lines. *Theor. Appl. Genet.*, 104: 104-110.
- East, E.M. 1908. Inbreeding in corn. *Rep. Conn. Agric. Exp. Stn.*, 419-428.
- Felsenstein, J. 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>).
- Gower, J.C. 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*, 27: 857-874.
- Kavar, T., Meglič, V., Rozman, L. 2007. Diversity of Slovenian maize (*Zea mays*) populations by *Hbr* (MITE) markers and morphological traits. *Russ. J. of Genetics*, v tisku.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, 12: 357-358.
- Rozman, L. 1998. Genska banka koruze. *Sodobno kmetijstvo*, 31: 71-73.
- Shull, G.H. 1908. The composition of a field of maize. *Am. Breeders Assoc. Rep.*, 4: 296-301.