

Keragaman Genetik Inbrida Jagung QPM dan Normal Berbasis Marka Mikrosatelit dan Hubungannya dengan Penampilan Hibrida

Marcia B. Pabendon¹, M. Azrai¹, M.J. Mejaya¹, dan Sutrisno²

¹Balai Penelitian Tanaman Serealia, Jalan Dr. Ratulangi Nomor 274, Maros 90514

²Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

ABSTRACT

Genetic Diversity of QPM and Normal Maize Inbreds as Revealed by SSR Markers and Its Relationship with the Hybrid Performance. Marcia B. Pabendon, M. Azrai, M.J. Mejaya, and Sutrisno. Information on genetic divergence of inbred lines and performance of the hybrids developed from the lines is a great value in maize hybrid program. A study was conducted to evaluate genetic diversity of six QPM and five normal maize inbred lines, to determine the relationship between genetic distance based on SSR markers and the grain yield of single cross hybrid, and to get information promising hybrid from the single cross of QPM hybrid. Twenty four polymorphic primers that covered the 10 maize chromosomes were used to fingerprint the lines, detecting in 94 alleles (average of 3.9 and a range of 2-6 alleles per locus). Genetic divergences were determined using the Jaccard's similarity coefficient, and a dendrogram was constructed using the UPGMA. Cluster analysis divided the inbreds into two clusters that were confirmed by principal coordinate analysis. Two promising QPM hybrids that are crossed from different heterotic group were found. The estimated value of simple correlations (r) of GDs with the gain yield of single cross hybrid was negatif (-0.07). There is a need to conduct more field trials to obtain more accurate correlations, particularly in a practical utility for predicting maize hybrid performance for grain yield.

Key words: Maize, QPM and normal inbreds, SSR, genetic distance, hybrid performance.

PENDAHULUAN

Malnutrisi di berbagai daerah di Indonesia akhir-akhir ini semakin meningkat, yang dipicu oleh rendahnya daya beli masyarakat. Salah satu sumber bahan pangan di Indonesia, khususnya di Indonesia Bagian Timur adalah jagung. Kandungan protein jagung normal berkisar 8-11% (Vasal 2000), namun masih kekurangan dua asam amino esensial, yaitu lisin dan triptofan dengan kandungan masing-masing hanya 0,225% dan 0,05% (Cordova 2001). Jika jagung digunakan sebagai sumber pangan, maka orang yang mengonsumsi jagung tersebut juga akan kekurangan asam amino lisin dan triptofan. *Quality Protein Maize* (QPM)

memiliki potensi yang sangat baik untuk nutrisi manusia, khususnya bagi bayi yang mengalami kekurangan gizi dan sebagai sumber protein bagi anak-anak prasekolah. Selain manusia, kedua asam amino tersebut juga sangat dibutuhkan oleh ternak, terutama ternak "*monogastric*", seperti unggas, yang tidak dapat menghasilkan lisin dan triptofan sendiri, sehingga harus dipasok dari makanannya sebagai sumber protein hewani (Srivastava *et al.* 2005).

Penelitian dan promosi QPM pernah mengalami kemunduran pada masa lalu, karena rendahnya kualitas sumber plasma nutfah dan kurangnya galur-galur elit QPM yang toleran cekaman. Namun sekarang, untuk memecahkan masalah kerapuhan genetik QPM dan untuk mempercepat pembentukan hibrida QPM, sejumlah besar plasma nutfah tropika dan subtropika telah tersedia di CIMMYT dan dapat diintroduksi. Hal lain yang penting adalah mengklasifikasikan inbrida-inbrida QPM ke dalam kelompok heterotik dan membuat pola heterotik baru (Ming *et al.* 2001).

Balai Penelitian Tanaman Sereal (Balitsereal) telah mengoleksi sejumlah inbrida jagung QPM yang diintroduksi dari CIMMYT. Oleh karena kebutuhan jagung berkualitas tinggi seperti jagung dengan kandungan protein tinggi sudah sangat mendesak, maka dibutuhkan suatu terobosan yang bisa membantu dalam pembentukan varietas yang berkualitas dalam waktu yang relatif singkat. Analisis keragaman genetik antara inbrida QPM (sebagai donor) dan inbrida normal (yang diinginkan), dapat diketahui dengan cepat dengan marka SSR. Dengan demikian dalam penentuan tetua persilangan, untuk memperoleh heterosis tinggi, tidak perlu lagi menyalangkan semua materi yang ada, tetapi hanya memilih inbrida-inbrida yang mempunyai jarak genetik yang jauh dan mempunyai potensi hasil yang tinggi.

Teori genetika kuantitatif telah menjelaskan korelasi antara pasangan tetua jarak jauh dengan estimasi heterosis (Falconer dan Mackay 1997). Heterosis merupakan fungsi kuadrat dari perbedaan di antara frekuensi alel di dalam tetua, yaitu perbedaan genetik dan juga efek dominan dari alel-alel yang mengontrol

karakter yang dituju (Falconer 1981). Tujuan penelitian adalah untuk: (a) mendapatkan informasi keragaman genetik antara inbrida QPM dan normal berdasarkan marka SSR, (b) mengetahui hubungan antara jarak genetik berbasis marka SSR dengan hasil biji hibrida silang tunggal, dan (c) mengetahui calon hibrida QPM harapan yang dapat diuji lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

Bahan Penelitian

Percobaan dilakukan di laboratorium menggunakan 6 inbrida QPM kuning introduksi dari CIMMYT, Mexico (CML161, CML162, CML163, CML164, CML165, dan CML172), dan 5 inbrida jagung normal yang tahan penyakit bulai (Mr10, AMTLCOHS9-1, Ki3, P345, dan Nei 9008). Inbrida CML165 tidak termasuk sebagai salah satu pasangan tetua hibrida di lapang namun dalam tulisan ini data profil genetik dari inbrida tersebut tetap ditampilkan sebagai bahan informasi.

Primer mikrosatelit atau SSRs (*Single Sequence Repeats*) yang digunakan sebanyak 24 pasang basa (*forward* dan *reverse*), berasal dari *Research Genetic, Inc.*, dipilih berdasarkan tingkat polimorfisme (referensi dari CIMMYT), menggunakan alel standar, yaitu alel-alel representatif untuk Asia (Cina, India, Indonesia, Thailand, dan Vietnam) yang menyebar secara merata pada 10 kromosom jagung.

Karakterisasi Molekuler Berdsasarkan Marka SSR

Sebanyak 15 biji jagung dari masing-masing inbrida ditanam pada baki yang menggunakan media tanah. Bahan tanaman yang digunakan dalam ekstraksi DNA adalah daun tanaman jagung yang berumur 10-15 hari setelah tanam. Bagian tanaman yang diambil adalah daun muda yang telah membuka sempurna, sebanyak 10 individu untuk masing-masing inbrida, satu lembar dari setiap individu tanaman.

Isolasi dan amplifikasi DNA, pemisahan DNA dengan PAGE (*Polyacrylamide Gel Electrophoresis*), dan visualisasi DNA dilakukan mengikuti prosedur yang digunakan George *et al.* (2004a). Kuantitas dan kualitas DNA hasil ekstraksi diukur berdasarkan standar λ -DNA melalui proses elektroforesis horizontal dengan menggunakan gel agarose 0,8%.

Uji Daya Hasil Pendahuluan Hibrida Silang Tunggal

Percobaan lapang dilakukan untuk melihat penampilan 20 hibrida F_1 , yaitu hasil persilangan kedua tetua tersebut. Dalam percobaan ini inbrida CML165 tidak termasuk sebagai salah satu pasangan hibrida. Sebagai cek adalah kultivar Semar10 dan C7. Kultivar

Semar10 adalah kultivar silang tiga jalur yang dirilis oleh Badan Litbang Pertanian pada tahun 2001 dengan potensi hasil sebesar 9 t/ha, sedangkan kultivar C7 adalah kultivar yang dirilis oleh swasta. Percobaan ini menggunakan Rancangan Kelompok dengan tiga ulangan. Ukuran plot adalah 5 m x 3 m. Jarak dalam barisan 25 cm dan antar barisan 75 cm, ditumbuhkan satu tanaman per lubang tanam. Pupuk yang digunakan adalah N, P_2O_5 , dan K_2O sesuai dengan dosis rekomendasi, yaitu 300 kg urea/ha, 200 kg SP36/ha, dan 100 kg KCl/ha. Pemberian urea dilakukan dua kali, yaitu pertama, pada umur satu minggu setelah tanam bersamaan dengan semua pupuk P_2O_5 dan K_2O . Pemupukan urea yang kedua dilakukan pada umur 30 hari setelah tanam. Pada saat panen, masing-masing satu baris, tanaman pinggir tidak dianalisis. Karakter yang diamati, yaitu hasil biji (t/ha) (k.a. 15%), umur berbunga jantan dan betina, *Anthesis Silking Interval* (ASI), tinggi tanaman (cm), dan tinggi tongkol (cm). Tidak dilakukan pemberian air karena penanaman dilakukan pada musim hujan. Tidak dilakukan pencatatan curah hujan sejak tanam sampai panen.

Analisis Data

Analisis data molekuler dilakukan berdasarkan hasil skoring pita DNA yang muncul pada *plate*. Skoring dilakukan dengan cara: jika ada pita diberi skor satu (1) dan jika tidak ada pita diberi skor nol (0). Hasil skoring dalam bentuk data biner. Tingkat polimorfisme (PIC) dari primer yang digunakan dihitung untuk masing-masing marka SSR (Smith *et al.* 1997), dengan formula: $PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2$, di mana f_i^2 adalah frekuensi alel ke-i. Tingkat kemiripan genetik (GS) diestimasi dari data jumlah alel dengan menggunakan koefisien Jaccard (Rohlf 2000) dengan formula: $S = m/(n+u)$ di mana m adalah jumlah pita (alel) DNA yang sama posisinya, n adalah total pita (alel) DNA, dan u adalah jumlah pita (alel) DNA yang tidak sama posisinya. Kemiripan genetik dianalisis dengan menggunakan program komputer NTSYS-pc versi 2.1 (Rohlf 2000). Analisis matriks jarak genetik diperoleh dari hasil analisis kemiripan genetik (Lee 1998), dengan formula: $S = 1 - GS$, di mana S adalah jarak genetik, GS adalah kemiripan genetik (*Genetic Similarity*). *Principal Coordinate Analysis* (PCoA) digunakan untuk mengetahui posisi relatif dari masing-masing hibrida dan tetuanya. Komponen utama dari peubah data asal diperoleh dari matriks varians-kovarians peubah asalnya (Dillon dan Goldstein 1984).

Analisis data fenotipik menggunakan program IRR1-stat berdasarkan Rancangan Acak Kelompok. Estimasi parameter genetik seperti daya gabung umum (DGU), daya gabung khusus (DGK), dan hete-

rosis tidak dianalisis karena inbrida tetua tidak diikuti dalam perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam melakukan seleksi calon tetua hibrida secara umum, yang merupakan prioritas utama adalah hasil biji. Menurut Stojacovic *et al.* (2005), hasil biji hibrida dan komponen tetuanya merupakan karakter yang paling penting, dan pengaruhnya sangat penting terhadap perekonomian produksi dan perbenihan jagung secara komersial. Penampilan hibrida F_1 dari beberapa hasil persilangan inbrida QPM dan normal, dapat dilihat pada Tabel 1. Terdapat lima hibrida yang berbeda nyata terhadap kultivar cek Semar10, yaitu hibrida CML161 x Nei 9008, CML161 x Mr10, CML164 x Mr10, CML172 x Nei 9008, dan CML172 x Mr10 dengan hasil biji masing-masing 9,25; 9,84; 10,37 8,10; dan 8,20 t/ha. Dari kelima hibrida tersebut terdapat dua hibrida yang berbeda nyata terhadap kultivar cek C7, yaitu hibrida CML161 x Mr10 dan CML164 x Mr10. Kedua hibrida tersebut adalah yang tertinggi dalam percobaan ini sehingga dapat dijadikan sebagai hibrida harapan karena selain hasilnya tinggi, mempunyai kelebihan lain, yaitu mengandung QPM dan toleran terhadap penyakit bulai.

Hibrida Shaktiman-4 (CML161 x CML169) merupakan salah satu hibrida QPM terbaik pada lahan irigasi tadah hujan di India. Selain itu, Shaktiman-3

(CML161 x CML163) dan Shaktiman-4, merupakan hibrida yang cocok dikembangkan tanpa pengolahan tanah (Srivastava *et al.* 2005). Ming *et al.* (2001), melaporkan bahwa inbrida CML161 mempunyai daya gabung umum terbaik untuk hasil biji. Pada penelitian ini, CML161 dan CML164 juga berada dalam kelompok yang sama, dan mereka menginformasikan bahwa kedua inbrida introduksi dari CIMMYT diekstrak dari Q25QPM. Hal tersebut mengindikasikan bahwa inbrida QPM CML161 dan CML164 adalah inbrida potensial sebagai tetua.

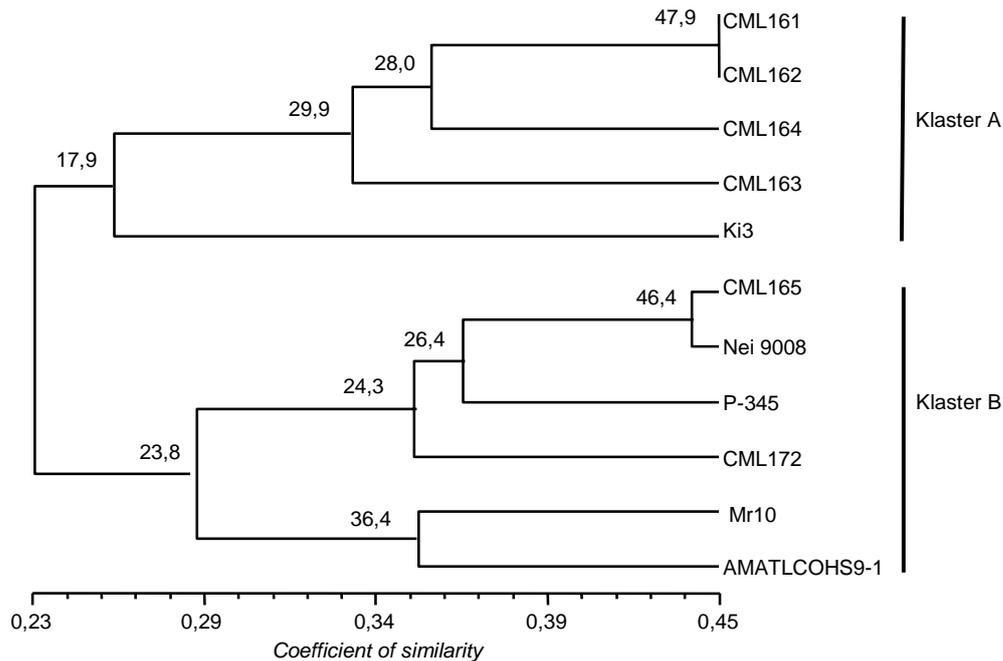
Hasil karakterisasi genotipik diperoleh tingkat polimorfisme lokus SSR cukup tinggi, yaitu 0,59, dengan jumlah alel rata-rata 3,92 dengan kisaran antara 2-6 alel per lokus SSR. Matriks jarak genetik dari semua pasangan persilangan hibrida yang diuji berkisar dari 0,55-0,91. Dengan tingkat polimorfisme yang cukup tinggi mengindikasikan bahwa variasi di antara inbrida yang dianalisis cukup besar. Semua variasi fenotipik di dalam suatu spesies dikontrol oleh polimorfisme sejumlah gen. Polimorfisme ini merupakan dasar fungsional dari *Quantitative Trait Loci* (QTL) (Buckler *et al.* 2006).

Dendrogram (Gambar 1), menunjukkan semua inbrida dapat dibedakan dengan jelas antara satu dengan yang lain. Pada tingkat kemiripan genetik sebesar 23%, terdapat dua klaster, yaitu pertama adalah klaster A, terdiri atas lima inbrida yang didominasi oleh inbrida QPM, yaitu CML161, CML162, CML163, CML164,

Tabel 1. Penampilan F_1 dari beberapa hasil persilangan antara inbrida QPM dan inbrida normal.

No.	Hibrida jagung	Hasil (t/ha)	Jarak genetik
1	CML161 x Nei 9008	9,25a	0,81
2	CML161 x Ki3	7,71	0,71
3	CML161 x P345C4S2	6,53	0,75
4	CML161 x Mr10	9,84ab	0,71
5	CML162 x Nei 9008	7,50	0,82
6	CML162 x Ki3	6,45	0,73
7	CML162 x P345C4S2	7,92	0,77
8	CML162 x Mr10	6,81	0,82
9	CML163 x Nei 9008	7,93	0,87
10	CML163 x Ki3	7,13	0,87
11	CML163 x P345C4S2	7,60	0,80
12	CML163 x Mr10	6,96	0,91
13	CML164 x Nei 9008	6,74	0,76
14	CML164 x Ki3	6,67	0,67
15	CML164 x P345C4S2	7,11	0,78
16	CML164 x Mr10	10,37ab	0,79
17	CML172 x Nei 9008	8,10a	0,68
18	CML172 x Ki3	7,67	0,72
19	CML172 x P345C4S2	7,90	0,66
20	CML172 x Mr10	8,20a	0,74
21	Semar 10 (Pembanding a)	7,24	-
22	C7 (pembanding b)	8,51	-
	5%LSD	0,77	-

Angka-angka pada satu lajur yang diikuti oleh huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji LSD.



Gambar 1. Dendrogram 6 inbrida QPM dan 5 non QPM berdasarkan pengelompokannya menggunakan 24 marka SSR.

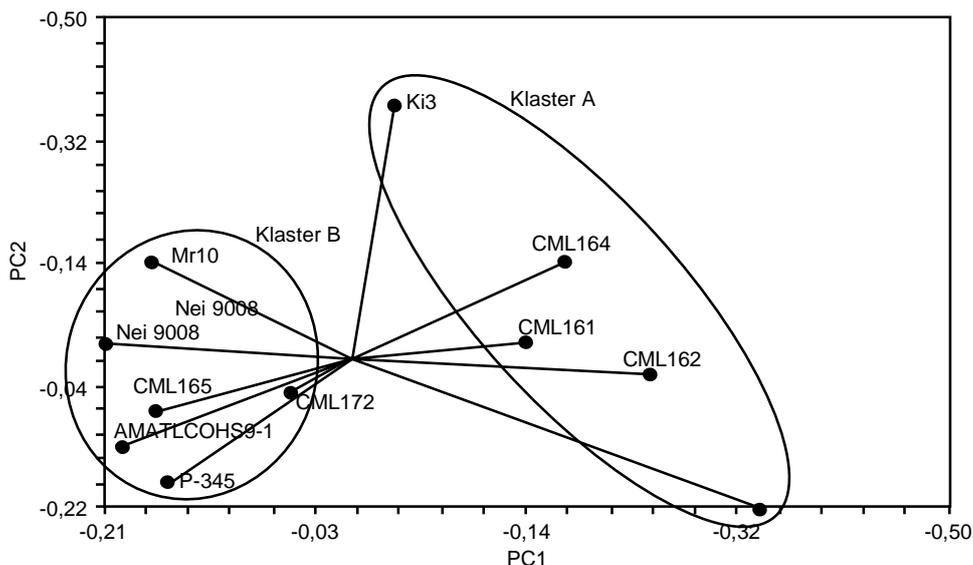
dan Ki3. Kedua adalah klaster B, terdiri atas enam inbrida, yang didominasi oleh inbrida normal, yaitu Nei 9008, P-345, Mr10, AMATLCOHS9-1, CML165, dan CML172.

Hal menarik bahwa terdapat inbrida normal pada grup yang didominasi oleh inbrida QPM, yaitu inbrida Ki3 pada klaster A, dan sebaliknya terdapat inbrida QPM pada grup yang didominasi oleh inbrida normal, yaitu CML165 dan CML172 pada klaster B. Hal tersebut dapat terjadi karena koleksi inbrida di Indonesia sebagian besar berasal dari CIMMYT. Menurut George *et al.* (2004b), Indonesia mempunyai sejarah yang panjang dalam pertukaran plasma nutfah dengan CIMMYT yang digunakan dalam program pemuliaan. Hal tersebut ditunjukkan oleh adanya sejumlah materi plasma nutfah di Indonesia yang berkerabat dekat dengan inbrida dari CIMMYT.

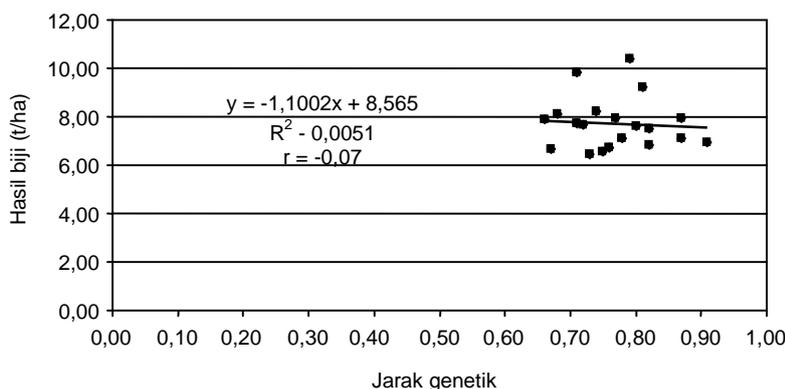
Jika dihubungkan dengan hasil biji, kelima hibrida yang berbeda nyata terhadap dua kultivar cek, terdapat tiga hibrida merupakan hasil persilangan antara grup atau klaster yang berbeda, yaitu CML161 x Nei 9008 (9,25 t/ha), CML161 x Mr10 (9,84 t/ha), CML164 x Mr10 (10,37 t/ha), dan dua hibrida lainnya merupakan hibrida hasil persilangan pada grup yang sama, yaitu CML172 x Nei 9008 (8,10 t/ha), dan CML172 x Mr10 (8,20 t/ha). Tampak bahwa dari persilangan antargrup diperoleh hasil biji yang lebih tinggi dibandingkan dengan persilangan intragrup (Gambar 2). Dengan demikian pengelompokan materi genetik berbasis marka

molekuler akan sangat membantu dalam menyeleksi tetua hibrida lebih dini. Menurut El-Maghraby *et al.* (2005), metode yang digunakan akan lebih sederhana, efisien, dan murah jika dapat memprediksi heterosis lebih awal sebelum percobaan di lapang, dalam kaitannya dengan pengurangan sejumlah persilangan, evaluasi lapang, serta dalam mempercepat program pemuliaan hibrida. Namun perlu diketahui bahwa pencapaian heterosis tinggi bukan hanya berdasarkan jarak genetik saja tetapi masih ada faktor-faktor lain yang ikut berperan seperti potensi genetik dari inbrida itu sendiri.

Dalam penelitian ini, korelasi antara jarak genetik berdasarkan marka SSR terhadap hasil biji hibrida F₁ menghasilkan nilai r yang negatif walaupun sangat kecil, yaitu -0,07 (Gambar 3). Hal ini berarti bahwa nilai jarak genetik yang tinggi belum mendukung hasil biji yang tinggi. Pada tulisan ini analisis korelasi adalah merupakan informasi awal untuk melihat hubungan antara jarak genetik berdasarkan marka mikrosatelit dengan hasil biji. Perlu diketahui bahwa hasil biji banyak dipengaruhi oleh lingkungan sehingga untuk memperoleh data yang akurat maka harus dilakukan pada beberapa lokasi. Beberapa jurnal melaporkan bahwa hasil biji yang tinggi tidak selalu diperoleh dari hibrida yang mempunyai nilai jarak genetik tertinggi tetapi pada umumnya sedang sampai tinggi. Terbukti dalam penelitian ini, dua hibrida hasil tertinggi, yaitu hibrida CML164 x Mr10 dan CML161 x Mr10 mempu-



Gambar 2. Posisi relatif 6 inbrida QPM dan 5 inbrida normal berdasarkan analisis PCoA.



Gambar 3. Korelasi jarak genetik berdasarkan marka SSR terhadap hasil biji (t/ha) hibrida QPM silang tunggal.

nyai nilai jarak genetik masing-masing 0,79 dan 0,71 tergolong sedang, sedangkan nilai jarak genetik dari hibrida yang diuji berkisar dari 0,66-0,91.

Menurut Birchler *et al.* (2003), yang menjadi tantangan dalam pengembangan model molekuler untuk heterosis adalah membuat korelasi yang benar antara karakter fenotipik dan berbagai peristiwa kausatif molekuler yang terjadi pada hibrida. Informasi mengenai korelasi antara jarak genetik dan hasil biji juga bervariasi. Parentoni *et al.* (2001), menggunakan marka RAPD pada jagung dan diperoleh filogeni yang sesuai dengan data *pedigree*, walaupun korelasi antara jarak genetik dan daya gabung khusus positif tetapi sangat lemah. Barbosa *et al.* (2003), menganalisis kluster untuk membentuk kelompok heterotik inbrida jagung, dan memperoleh korelasi yang signifikan antara jarak genetik dan hasil. Lanza *et al.* (1997) tidak menemukan korelasi antara jarak genetik dan hasil secara

umum, namun korelasi menjadi nyata ketika mereka melakukan analisis antarkluster. Dias *et al.* (2004) melaporkan bahwa perbedaan genetik yang kontras dan heterosis tidak selalu berhubungan secara linier, dan Sant *et al.* (1999) menambahkan bahwa hubungan non linier yang terjadi antara jarak genetik dan hasil yang eratic (tidak menentu) dari sejumlah hasil penelitian disebabkan oleh pengaruh lingkungan. Oleh sebab itu, untuk mendapatkan korelasi yang akurat, data lapang harus lebih dari satu lokasi atau musim karena faktor lingkungan sangat berpengaruh.

KESIMPULAN

Variasi genetik inbrida jagung QPM dapat dibedakan satu dengan yang lain secara jelas dengan menggunakan marka SSR. Dua hibrida QPM yang memberikan harapan untuk diuji lebih lanjut adalah hibrida

CML161 x Mr10 dan CML164 x Mr10 dengan hasil berturut turut 9,84 dan 10,37 t/ha. Jarak genetik berkorelasi negatif dengan hasil biji, walaupun angka korelasinya sangat kecil ($r = -0,07$). Pengujian lebih lanjut perlu dilakukan dengan menambah lokasi penelitian untuk mendapatkan data yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Barbosa, A.M.M., I.O. Gerald, L.L. Benchimol, A.A.F. Garcia, Jr. Souza, and A.P. Souza. 2003.** Relationship of intra and interpopulation tropical maize single cross hybrid performance and genetic distances computed from AFLP and SSR markers. *Euphytica* 130:87-99.
- Birchler, J.A., D.L. Auger, and N.C. Riddle. 2003.** In search of molecular basis of heterosis. *Plant Cell* 15(10):2236-2240.
- Buckler, E.S., B.S. Gaut, and M.D. McMullen. 2006.** Molecular and functional diversity of maize. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9:1-5.
- Cordova, H. 2001.** Quality protein maize: Improved nutrition and livelihoods for the poor. *Maize Research Highlights 1999-2000.* CIMMYT. p. 27-31.
- Ei-Maghraby, M.A., M.E. Moussa, N.S. Hana, and H.A. Agrama. 2005.** Combining ability under drought stress relative to SSR diversity in common wheat. *Euphytica* 14:301-308.
- Dias, L.A.S., E.A.T. Picolt, R.B. Roca, and A.C. Alfenas. 2004.** A priori choice of hybrid parents in plants. *Genet. Mol. Res.* 3(3):356-368.
- Dillon, W.R. and M. Goldstein. 1984.** *Multivariate Analysis Methods and Applications.* John Willey and Sons. p. 581.
- Falconer, D.S. 1981.** *Introduction to quantitative genetics.* Longman, London.
- Falconer, D.S. and T.F. Mackay. 1997.** *Introduction to Quantitative Genetics.* Longman, London.
- George, M.L.C., E. Regalado, M. Warburton, S. Vasal, and D. Hoisington. 2004a.** Genetic diversity of maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica* 135:145-155.
- George, M.L.C., E. Regalado, W. Li, M.Cao, M. Dahlan, M. Pabendon, M.L. Warburton, X. Xianchun, and D. Hoisington. 2004b.** Molecular characterization of Asian maize inbred lines by multiple laboratories. *Theor. Appl. Genet.* 109:80-91.
- Ming, F.X., T. Jing, H. Bihua, and L. Feng. 2001.** Analyses of combining ability and heterotic groups of yellow grain quality protein maize inbreds. Seventh Eastern and Southern Africa Regional Maize Conference 11th-15th February 2001.
- Lanza, L.L.B., C.L. de Souza, L.M.M. Ottoboni, M.L.C. Vieira, and A.P. de Souza. 1997.** Genetic distance of inbred lines and prediction of maize single-cross performance using RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.* 94:1023-1030.
- Lee, M. 1998.** DNA markers for detecting genetic relationship among germplasm revealed for establishing heterotic groups. Presented at the Maize Training Course, CIMMYT. Texcoco, Mexico, August 25, 1998.
- Parentoni, S.N., J.V. Magalhaes, C.A.P. Pacheco, M.X. Santos, T. Abadie, E.E.G. Gama, P.E.O. Guimares, W.F. Meirelles, M.A. Lopez, M.J.V. Vasconcelos, and E. Paiva. 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* 121:197-208.
- Rohlf, F.J. 2000.** NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.1. Applied Biostatistics Inc.
- Sant, V.J., A.G. Patankar, N.D. Sarode, L.B. Mhase, M.N. Sainani, R.B. Deshmukh, P.K. Ranjekar, and V.S. Gupta. 1999.** Potential of DNA markers in detecting divergence and in analyzing heterosis in Indian elite chickpea cultivars. *Theor. Appl. Genet.* 98:1217-1225.
- Smith, O.S., J.S.C. Smith, S.L. Bowen, R.A. Tenborg, and S.J. Wall. 1997.** Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, heterosis, and RFLPs. *Theor. Appl. Genet.* 80:833-840.
- Srivastava, A., M.L. Jat, P.H. Zaidi, H.K. Rai, R.K. Gupta, S.K. Sharma, and G. Srinivasan. 2005.** Screening on quality protein maize hybrids with different resource conserving technologies. Paper presented in the 9th Asian Regional Maize Workshop, Beijing, China September 6-9, 2005.
- Stojacović, M., G. Becavac, and N. Vasić. 2005.** B73 and related inbred lines in maize breeding. *Genetika* 37(3): 245-252.
- Vasal, S.K. 2000.** The quality protein maize story. *Food and Nutrition Bulletin* 21(4):445-450.
-