

BEVEZETÉS

A molekuláris biológiai és genetikai módszerek gyors fejlődése egyre inkább tért hódít a növénynemesítés különböző területein, így a kukoricánemesítésben is. A növényi fenotípusos jellemzők és az erre épülő DUS-bélyegek (UPOV) mellett a molekuláris markerek alkalmazása lehetővé teszi a nemesítési alapanyagok közötti polimorfizmus vizsgálatán keresztül a genetikai állomány felmérését, a genetikai változatosság, változékonyság és távolság mértékének meghatározását, valamint a fajtaazonosítási és fajtaoltalmi célú fajtaleírásokat (*Smith és Senior, 1999*).

A kukoricafajták rokonság szerinti csoportosítása igen fontos szerepet játszik a nemesítési munkában, mivel a heterózis alapfeltétele a szülőtörzsek közötti genetikai távolság. A kukoricatörzsek rokonsági körökbe sorolása, csoportosítása annál eredményesebb, minél pontosabb a fajták jellemzése, a közöttük fennálló finomabb különbségek kimutatása. Ezek meghatározásához nélkülözhetetlen segítséget nyújtanak azok a molekuláris szintű eljárások, amelyek közvetve vagy közvetlenül az egyedek genetikai hátterét térképezik fel (*Pejic et al. 1998*).

CÉLKITŰZÉS

Munkánk során az alábbi célokat tűztük ki:

1. 46 martonvásári nemesítésű, és egyéb, a martonvásári hibridek szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett törzs polimorfizmus vizsgálatát morfológiai leírás, izoenzim-mintázat és DNS alapú módszerek – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – elemzése alapján.
2. A 46 kukorica beltenyésztett törzs pedigre analízisének elkészítését, melyben minden beltenyésztett törzs eredetét az előállításában szereplő kiindulási populációkig vezetjük vissza.
3. A kukorica beltenyésztett törzsek rokonság szerinti csoportosítását a morfológiai, biokémiai és genetikai adatok szerint a polimorfizmus vizsgálatok során nyert adatok alapján.
4. A pedigre adatok, valamint a morfológiai, biokémiai és genetikai markerek közötti összefüggés vizsgálatát lineáris regresszió analízis módszerével.
5. A főbb rokonsági körökhöz nem sorolható törzsek dendrogramon történő elhelyezkedésének meghatározását, összevetve a nemesítési tapasztalatokkal.

6. Végző célunk egy olyan rendszer kidolgozása volt, amelyben a morfológiai leírás mellett meghatározzuk azt az optimális biokémiai és genetikai markerszámot, illetve markerkombinációt, amelyek reális, a pedigre adatoknak megfelelő képet mutatnak a beltenyészett törzsek rokonsági viszonyairól. Ennek segítségével lehetővé válik az ismeretlen származású beltenyészett törzsek rokonsági csoportba sorolása, így a rendszer a nemesítési munkában a keresztezési programok tervezésének alapjául szolgálhat.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Növényi anyag

Munkánk során 46, ismert genetikai hátterű kukorica beltenyészett törzset használtunk. A beltenyészett törzseket a következő főbb rokonsági körökből válogattuk: Lancaster, Iodent, Iowa Stiff Stalk Synthetic (ISSS), Mindszentpusztai Sárga Lófogú (MPS) és OP Lacaune. Munkánkhoz felhasználtunk ezeken kívül néhány olyan beltenyészett törzset, amelyek a fenti főbb rokonsági csoportba nem sorolhatók, de a származásuk pontosan meghatározható: argentin flintek, korai kanadai törzsek, *W 117*-rokon törzsek, valamint *Co 125* származékok.

A pedigre analízishez az *International Crop Information System (ICIS)* által forgalmazott szoftvert használtuk. Első lépésként a beltenyészett törzsek származását vezettük vissza a kiindulási populációkig, melyet *Gerdes et al. (1994)* szerint végeztünk el. Ezután a beltenyészett törzsek páronkénti összehasonlításával a program szerint kiszámítottuk a rokonsági koefficienseket.

Polimorfizmus vizsgálatok

A polimorfizmus és a rokonsági kapcsolatokat morfológiai leírás, izoenzim-mintázat, valamint DNS alapú vizsgálatok – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – alapján határoztuk meg. Munkánk során 7 izoenzimet, 20 RAPD és 20 SSR markert teszteltünk.

A morfológiai leírásban felvételezett tulajdonságok

A beltenyésztett törzseket kétéves, négyismétléses kisparcellás kísérletekben, soronként, véletlen blokk elrendezésben vetettük el az országban két helyen, Martonvásáron és Mezőkövesden. A felvételezett tulajdonságokat parcellánként 10 növény átlagából határoztuk meg az UPOV TG 2/6 (1994) és *Smith és Smith* (1989) alapján.

A beltenyésztett törzsek közötti genetikai távolságot a törzsek páronkénti összehasonlításával végeztük az *International Crop Information System (ICIS) V1.0* genetikai adatelemző szoftverével. A beltenyésztett törzsek származását a kiindulási populációkig vezettük vissza *Gerdes et al.* (1994) szerint.

Izoenzim vizsgálatok

Az izoenzimek meghatározása keményítő gélelektroforézissel történt *Goodman és Stuber* (1983) és *Stuber et al.* (1988) módszere szerint.

Kukorica beltenyésztett törzsenként 5 magot vizsgáltunk az UPOV által a TG 2/6-ban előírt izoenzimek alapján, melyek a következők voltak: almasav-dehidrogenáz, 6 lókus, izocitrát-dehidrogenáz, 2 lókus, 6-foszfoglükonát-dehidrogenáz, 2 lókus, foszfoglükomutáz, 2 lókus, foszfoglükóz-izomeráz, 1 lókus, savas-foszfátáz, 1 lókus, alkohol-dehidrogenáz, 1 lókus.

DNS markerekkel végzett vizsgálatok

A genetikai vizsgálatok során a 46 kukorica beltenyésztett törzset két fő primercsoportba (RAPD, SSR) tartozó 40 primerrel vizsgáltuk. A random polimorfizmusok elemzésére a 10 bp hosszúságú, Operon Sci. (USA) gyártmányú OP/AB készletet (1-20), az ismétlődő DNS szekvenciákban előforduló genetikai polimorfizmusok elemzésére a 16-18 bp hosszúságú SSR-primerpárokat alkalmaztuk (*Weining and Langridge* 1991).

Az elemzések kiértékeléséhez alkalmazott statisztikai módszerek

A morfológiai leírás esetében a mért morfológiai adatokat kéttényezős varianciaanalízissel értékeltük. A polimorfizmus vizsgálatokhoz a beltenyésztett törzsek közötti különbözőség becslését az UPOV TG 2/6 bejelentőív útmutatója alapján végeztük el, amely

során a mért adatokat bonitált adatokká konvertáltuk, és a bejelentőívben előírt szabályokat alkalmaztuk.

A polimorfizmus vizsgálatokhoz kiszámítottuk a Dice hasonlósági indexeket a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával, valamint meghatároztuk az ún. PIC (polymorphic index content) értékeket, amelyek egy adott lókuszt diszkrimináló képességét fejezik ki.

A rokonsági viszonyokat hierarchikus cluster-analízissel elemeztük.

A lineáris regresszió analízis céljából a pedigre analízis szerint a beltenyésztett törzsek páronkénti összehasonlításával, az ICIS program által számított rokonsági koefficienseket, mint független (x) változót vizsgáltuk a függő változók (y) viszonyításában. A genetikai markerek esetében a függő változókat szintén a törzsek páronkénti összehasonlításával számítottuk az ún. Dice korrelációs hasonlósági indexek alapján. A morfológiai leírás esetében az SPSS matematikai statisztikai program által, a mért adatok standardizált értékei szerint, négyzetes euklidészi távolság alapján számított korrelációs koefficienseket viszonyítottuk a független változókhoz.

EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

Kukorica beltenyésztett törzsek pedigre analízise a törzsek származása alapján

A rokonsági kapcsolatokat modellező cluster-analízis szerint elkészített dendrogramon a beltenyésztett törzsek rokonság szerinti csoportosítása összhangban állt a genetikai háttérrel. Kivételt képezett az Mv L20 nevű beltenyésztett törzs, amely 50 %-os ISSS származása ellenére az Mv L17 nevű beltenyésztett törzshöz kapcsolódott. Tekintettel azonban arra hogy az Mv L20 50 %-ban tartalmazza az Mv L17 törzs eredetének megfelelő, W 117 x B 37 keresztezést, így a rokonsági viszonyok ismeretében genetikailag kapcsolódhat az Mv L17 törzshöz.

Polimorfizmus vizsgálatok

Polimorfizmus vizsgálatok a morfológiai leírás alapján

A variancia analízis eredménye szerint bizonyos tulajdonságokra, például a kalászkapelyva antociános színeződésére, a cső alakjára, a szemtípusra, a szemkorona színére, a szemsorszámra, valamint a csuta antociános színeződésére a környezeti hatás nem volt szignifikáns. A portok, a kalászkagyűrű és a bibe színének antociánossága, a cső termékenyülésének mértéke, valamint a szem szélessége függött ugyan az évjárattól, de csak kisebb mértékben (a szignifikanciaszint 10 %-os valószínűségi szinten volt mérhető). A szem színére a fentieknél erősebb környezeti hatás volt jellemző, az adatok 1%-os valószínűségi szinten mutattak szignifikáns különbséget. A többi tulajdonság alakulását a környezet jelentős mértékben befolyásolta ($p = 0,1\%$).

A polimorfizmus vizsgálatban az UPOV TG 2/6 (1994) bejelentőív szerint két beltenyésztett törzs, a Mo 17 Mv, és izogén származéka, a Mo 17 wx mutatott olyan erős hasonlóságot, amely alapján a bejelentőíven szereplő alaptulajdonságok szerint nem voltak megkülönböztethetők egymástól.

A polimorfizmus mértékét kifejező PIC értékek 0,48 és 0,82 közé estek, az átlagérték 0,59 volt. Legmagasabb PIC értékkel a címervirágzás (0,81) és a nővirágzás (0,80) jellemezhető.

Polimorfizmus vizsgálatok az izoenzim mintázat alapján

Az izoenzim-mintázat esetében a vizsgált 15 enzimlókuszt közül 13 mutatott polimorfizmust, mely lókuszekben az összes lehetséges 35 allél közül a vizsgált beltenyésztett törzsekben 29 fordult elő, ami átlagosan 2,2 allél/lókuszt értéknek felel meg.

A polimorfizmus meghatározásában az izoenzim-mintázat szerint a 46 beltenyésztett törzs összesen 29 eltérő gélelektroforézis csoportot alkotott, ami azt jelenti, hogy egyes törzsek nem különböztek egymástól. Ez az azonosság a törzsek nagy részénél összefügg a rokonsági kapcsolatokkal, és azonos genetikai származásra vezethető vissza. Bizonyos beltenyésztett törzsek esetében a megegyező izoenzim-mintázat azonban a pedigré alapján nem magyarázható.

Az izoenzim-mintázat szerint 18 beltenyésztett törzs mutatott egyedi gélelektroforézis mintázatot, amely alapvetően nem unikális allélok megjelenésében, hanem a polimorf lókuszok alléljainak egyedi kombinációjában nyilvánult meg.

Fenti eredményeknek megfelelő képet kaptunk az ún. Dice hasonlósági indexek esetében is. A legnagyobb érték az azonos enzimmintázatot mutató beltenyésztett törzsek között volt (Dice-index = 1), ami a genetikai háttérrel legtöbb törzs esetében magyarázható. A legalacsonyabb értéket a *Mv L2* és az *F7* között kaptuk (0,38), ami megfelel a törzsek származásának, mivel nem állnak egymással rokonsági kapcsolatban.

A két Lancaster törzs, a *Mo 17 Mv* és izogén változata, a *Mo 17 wx* az izoenzim-mintázat alapján sem volt megkülönböztethető egymástól.

A polimorfizmus mértékét kifejező ún. PIC (polymorphic index content) értékek az izoenzim-lókuszokat tekintve 0,04 és 0,55 közé estek, 0,27 átlagértékkel. A polimorf enzimlókuszok közül a legalacsonyabb értékeket az *Mdh3*, az *Mdh5* és a *Pgm1* lókuszok eredményezték (PIC = 0,04). A polimorfizmus kimutatásában a legtöbb információtartalommal a *Pgm2* és az *Acp1* lókuszok rendelkeztek, de nem haladták meg a 0,55 értéket. Az igen alacsony átlagérték, és a nem kiugróan magas legfelső érték alapján elmondhatjuk, hogy az izoenzim-vizsgálatok hatékonysága a polimorfizmus kimutatásában igen korlátozott mértékű.

Polimorfizmus vizsgálatok a PCR alapú markerekkel (RAPD, SSR)

RAPD és a génkapcsolt mikroszatellita primerpárokkal történő elemzés minden kukorica beltenyésztett törzs esetében alkalmas volt a polimorfizmus kimutatására.

A 20 vizsgált RAPD primer közül öt primer több ismétlés során sem adott egyértelműen értékelhető eredményt.

Három primer 100%-os monomorf mintázatot mutatott. További RAPD primerek kiemelkedően szelektív polimorfizmust mutattak a vizsgált beltenyésztett törzsek között. Végül 12 olyan RAPD primert találtunk, összesen 93 fragmentummal, amelyből 54 fragmentum (átlag 4,5 fragmentum/primer) megbízható, az ismétlésekben is megjelenő polimorf mintázatot mutatott.

Magas volt (0,8-0,9) a Dice hasonlósági index a következő több rokonsági csoport – pl. az ISSS, a Lancaster, a korai kanadai törzsek – tagjai között, mely eredmény magyarázható a törzsek származásával. A RAPD elemzés alapján számított legalacsonyabb Dice-indexeket

kaptunk többek olyan törzsek között, mely adatok a genetikai háttér ismeretében magyarázhatók, miután a törzspárok között nincs rokonsági kapcsolat. Bizonyos beltenyésztett törzsek a köztük lévő genetikai rokonság ellenére alacsony Dice-indexszel jellemezhetők. A legnagyobb hasonlóságot mutató két törzs – a *CM 105* és a *CM 108*, (Dice hasonlósági koefficiens érték: 0,91) – polimorfizmusát három primer két-két fragmentumának különbözősége eredményezte.

A génkapcsolt mikroszatellita primerpárokkal történő elemzés alapján a 20 primerpár közül három nem adott értékelhető PCR-mintázatot, kettő 100 %-os, egy pedig közel 98 %-monomorf mintázatot mutatott.

Két primerpár mutatott ugyan polimorfizmust, de a fragmentumok közötti kicsi, mindössze néhány bázispárnyi különbségek miatt a mintázatot nem tudtuk meghatározni. Több bázispár kiemelkedően szelektív polimorfizmust mutatott az egyes beltenyésztett törzsek között. Az adatmátrixot végül 11 primerpár összesen 71 polimorf fragmentuma alapján készítettük el, ami átlagosan 6,4 fragmentum/primer értéknek felel meg.

Az SSR markerekre jellemző szelektív polimorfizmusra utalnak a Dice-indexek, amelyek jóval alacsonyabb értékekkel jellemezhetők, mint az izoenzim-mintázat, vagy a RAPD elemzés esetében. A magasabb értékek is ritkábbak, és elmaradnak a fenti két módszer legmagasabb értékeitől. Ez arra utal, hogy az SSR markerek kiemelkedő szelektivitást mutatnak a polimorfizmus vizsgálatokban már alacsony primerszám mellett is. A legnagyobb hasonlóságot az *Mv L8* és az *Mv L10* törzsek mutatták (Dice hasonlósági koefficiens érték: 0,85), a köztük lévő polimorfizmust két mikroszatellita primerpár két-két fragmentuma határozta meg.

A genetikai markerek elemzése alapján minden beltenyésztett törzs esetében kimutatható volt a polimorfizmus, ami különösen figyelemreméltó az izogén vonalak (wx változat, fertilitást visszaállító, ún. restorer fertility (rf) változat) vizsgálatában.

Mind az SSR, mind a RAPD markerek elemzésével megkülönböztethető volt a két Lancaster törzs, a *Mo 17 Mv* és a *Mo 17 wx*, amelyek sem a morfológiai leírás, sem az izoenzim-mintázat szerint nem mutattak polimorfizmust.

Fenti adatoknak megfelelően alakultak a polimorfizmus mértékét kifejező ún. PIC (polymorphic index content) értékek.

A RAPD és az SSR markerek PIC értékei jóval magasabb értéktartományba estek: 0,2-0,91, átlag 0,61 (RAPD) illetve 0,54-0,90, átlag 0,73 (SSR). Ez azt jelenti, hogy a RAPD, ill. az SSR markerek még viszonylag alacsony primerszám mellett is hatékonyan alkalmazhatók a polimorfizmus vizsgálatokban.

Rokonsági viszonyok elemzése

A rokonsági viszonyok elemzése azt mutatta, hogy a 46 beltenyésztett törzs túl sok a csekély számú polimorfizmust mutató genetikai markerhez képest, ezért a törzsek számát 31-re csökkentettük. Az így elkészített dendrogramok még a genetikai markerek együttes elemzése ellenére is csak részben tükrözték a tényleges genetikai viszonyokat. Végül egy olyan szűkített törzsszortimentet hoztunk létre, amely rokonsági körönként két-két törzspárt tartalmazott, amelyek vagy egymásból, vagy egy közös őstől származtathatók. Az így elkészített dendrogramokon a morfológiai leírás alapján négy (Mindszentpusztai Sárga Lófogú, W 117-rokon, Iodent, valamint a B 37 eredetre visszavezethető ISSS törzsek), az izoenzim-mintázat alapján szintén négy csoport alakult a pedigrének megfelelően (B 37 eredetre visszavezethető ISSS, Lancaster, B 14 eredetű ISSS, valamint az OP Lacaune törzsek). A RAPD mintázatot elemezve hat (B 14 és B 37 eredetű ISSS, korai kanadai, OP Lacaune, Co 125, valamint W 117 származékok) rokonsági csoport alakult a genetikai háttérnek megfelelően, a pedigré szerint.

Az SSR markerek alapján készített dendrogram ebben a szűkített formában is nagyon heterogén képet mutatott. Ennek oka feltehetően az, hogy az SSR markerek a genom hipervariábilis régióihoz kötődnek, így szelektív polimorfizmus kimutatására kiválóan alkalmasak, míg a rokonsági viszonyok meghatározása csak nagyszámú primer vizsgálatával lehetséges.

A genetikai markerek együttes elemzése alapján elvégzett cluster-analízis szerint azonban minden beltenyésztett törzs a genetikai háttérnek megfelelő rokonsági csoportba került.

Fenti elemzések után érdemes volt megvizsgálnunk, hogy a morfológiai leírás és a genetikai markerek milyen kombinációjában végezhető el a törzsek rokonság szerinti csoportosítása, illetve mennyi az a minimális markerszám, amely alapján az osztályozás még megbízhatóan elvégezhető.

A laboratóriumi vizsgálatok közül az enzimmintázat meghatározását, mint a leggyorsabban, legegyszerűbben és a legkisebb költség ráfordításával kivitelezhető módszert érdemes alapul venni. A mért és bonitált morfológiai adatokat, amelyeket a szántóföldi kísérletek során rutinszerűen meghatározhatunk, szintén érdemes felhasználni. E két kísérleti rendszert célszerű a továbbiakban kiegészíteni a különböző genetikai markerekkel, a primerszám lépésről-lépésre történő növelésével.

A morfológiai leírás és az enzimmintázat elemzése alapján a rokonsági csoportok Mindszentpusztai Sárga Lófogu fajtából származó törzsek kivételével a pedigrének megfelelően alakultak.

A tényleges rokonsági viszonyok kialakulásáig az elemzéseket lépésről-lépésre egészítettük ki a genetikai markerek vizsgálati eredményeivel. Ahhoz, hogy minden törzspár a pedigrének megfelelően önálló csoportként jelenjen meg a dendrogramon, szükséges volt még három, jól megválasztott, szelektív polimorfizmust mutató RAPD primer vizsgálata.

A biokémiai és a genetikai markerek (izoenzim, RAPD, SSR) együttes elemzésekor minden beltenyészett törzs a származásának megfelelő csoportba került. Ez azt jelenti, hogy a genetikai markerek kisszámú törzset vizsgálva a morfológiai leírás nélkül önmagukban is alkalmasak a rokonsági viszonyok meghatározására.

A főbb rokonsági csoportokba nem sorolható beltenyészett törzsek dendrogramon való elhelyezkedése megfelelt a nemesítői tapasztalatoknak, miután vagy a morfológiai jellegük, vagy a koraiságuk, vagy a kombinálódó képességükről szerzett ismeretek alapján a hozzájuk leginkább hasonló törzsekhez kapcsolódtak.

A pedigree adatok, és a morfológiai leírás, valamint a biokémiai és genetikai markerek közötti összefüggés vizsgálata lineáris regresszió analízissel

Vizsgálatainkban a lineáris regresszió analízishez a három fő rokonsági kör tagjait (Lancaster, ISSS, Iodent) elemeztük.

A tényleges genetikai viszonyokat tükröző pedigré analízis által meghatározott távolság, valamint a beltenyészett törzsek páronkénti összehasonlításával, az SPSS program szerint számított távolság közötti legszorosabb korrelációt a biokémiai és a genetikai markerek együttes értékelésével kaptuk. Ebben az esetben az r értéke 0,81 volt, ami szoros korrelációnak felel meg, szemben a morfológiai ($r = 0,48$), az izoenzim-mintázat ($r = 0,57$), a RAPD analízis ($r = 0,64$) és az SSR elemzés ($r = 0,46$) adatai alapján számított közepes korrelációs koefficienssekkel.

A három fő rokonsági kör minden tagja a pedigreenek megfelelő csoportba került az összevont adatok alapján a cluster analízis értékelése szerint is, ami arra utal, hogy a két módszer eredménye összhangban áll egymással.

EREDMÉNYEK RÖVID ÖSSZEFOGLALÁSA

1. 46 martonvásári nemesítésű, és egyéb, a martonvásári hibridek szülőtörzsként felhasznált kukorica beltenyésztett törzs polimorfizmus vizsgálatát végeztük el morfológiai leírás, izoenzim-mintázat és DNS alapú módszerek – RAPD és génkapcsolt mikroszatellita (SSR) markerek – elemzése alapján. A magyarországi kukoricaneemesítésben ilyen átfogó elemzés még nem készült a polimorfizmus vizsgálatokban.
2. Elkészítettük a fent említett 46 kukorica beltenyésztett törzs pedigree analízisét, melyben minden beltenyésztett törzs eredetét az előállításában szereplő kiindulási populációkig vezettük vissza.
5. Cluster analízissel egy szűkített törzsszortiment létrehozásával, azonos genetikai háttérrel rendelkező rokon törzspárok alapján felállítottunk egy olyan rendszert, amelyben meghatároztuk, hogy a morfológiai leírás és a genetikai markerek milyen kombinációjában mutathatók ki a tényleges, pedigree szerinti rokonsági kapcsolatok. Megállapítottuk, hogy amennyiben a morfológiai leírást, és az izoenzim-mintázatot – mint rutinszerűen vizsgált tulajdonságokat – vesszük alapul, elegendő még három, jól megválasztott, szelektív polimorfizmust mutató RAPD primer vizsgálata a genetikai háttér pedigreerek megfelelő elemzéséhez.
6. A rokonsági csoportok szűkítésével a három fő rokonsági kör (Reid Yellow Dent, Iodent, Lancaster) minden tagja a pedigreerek megfelelő csoportba került az összevont adatok értékelése alapján.
7. Amennyiben a morfológiai leírás nem áll a rendelkezésünkre, abban az esetben a genetikai és biokémiai (izoenzim) markerek együttes elemzése is alkalmas a rokonsági kapcsolatok pontos feltárására.
8. A lineáris regresszió analízis eredménye is a fenti következtetéseket igazolja, amely szerint a genetikai markerek együttes feldolgozása alapján becsült, valamint a pedigree analízis szerint meghatározott rokonsági koefficiensek között szorosabb korreláció figyelhető meg, mint ha azt az egyes módszerekkel külön-külön becsülnénk.
9. Megvizsgáltuk, hogy a főbb rokonsági körökhöz nem sorolható beltenyésztett törzsek a szűkített törzsszortimentet feldolgozó dendrogramon mely rokonsági csoporthoz kapcsolódnak. Az így kapott eredmények mind az öt törzs esetében megfeleltek a nemesítési tapasztalatoknak, miután vagy a morfológiai jellegük, vagy a koraiságuk, vagy az egyéb törzsekkel való kombinálódóképességükről szerzett ismeretek alapján a hozzájuk leginkább hasonló törzsekhez kapcsolódtak.