

## Procena genetičke divergentnosti genotipova soje pomoću RAPD markera

- Originalni naučni rad -

Vesna PERIĆ, Iva ERIĆ, Snežana DRINIĆ-MLADENOVIĆ i Mirjana SREBRIĆ  
Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun

**Izvod:** Izbor roditeljskih parova jedan je od ključnih momenata u procesu oplemenjivanja. Dobijanje superiornog potomstva može se očekivati ukoliko se za ukrštanje koriste genetički udaljeni roditelji koji sadrže što veći broj nezavisnih lokusa za svojstvo na koje se vrši oplemenjivanje, sa alelima različitim kod oba roditelja.

Primenom genetičkih markera moguće je doći do prethodne informacije o genetičkoj sličnosti roditelja i na osnovu nje pretpostaviti osobine potomstva.

U ovom radu cilj je bio ispitati genetičku distancu između genotipa ZPS 015 i genotipova L 91-3103, Ravnica, Shine, L 90-14 i ZPS 107. Genotip ZPS 015 korišćen je kao roditelj u ukrštanjima sa navedenih pet genotipova. Svi genotipovi se odlikuju dobrim agronomskim svojstvima, te je pretpostavka da će se njihovim ukrštanjem dobiti superiorno potomstvo. Genomska DNK ovih šest genotipova amplifikovana je pomoću 18 RAPD prajmera. Dobijeni rezultati (prisustvo ili odsustvo trake, tj. DNK fragmenta) prevedeni su u binarne podatke i izračunati su koeficijenti sličnosti po Jaccard-u kao i *simple matching coefficient*. Dobijeni nivo polimorfizma od 20% i izračunate genetičke distance ukazuju na malu genetičku udaljenost između roditeljskih parova, što je u skladu sa dosadašnjim analizama polimorfnosti genoma soje. Najmanja genetička distanca utvrđena je između genotipova ZPS 015 i L 90-14, a najveća između ZPS 015 i L 107, na osnovu oba koeficijenta sličnosti.

Prinosi potomstva F4 generacije pet kombinacija ukrštanja, dobijeni na osnovu dvogodišnjih ogleda, nalaze se u nesignifikantnoj i negativnoj korelaciji sa genetičkom udaljenošću roditelja.

**Ključne reči:** Genetička divergentnost, RAPD markeri, soja.

### Uvod

Jedan od ključnih momenata u oplemenjivanju soje je izbor roditelja za razvoj početnih populacija. Varijabilnost segregirajućih populacija je kod soje

ograničena, obzirom na usku genetičku osnovu koja je rezultat samooplodnje i činjenicu da postojeće svetske kolekcije germplazme vode poreklo od svega nekoliko divergentnih predaka *Gizlice i sar.*, 1994. Varijansa početne populacije za prinos rezultat je segregiranja gena koji determinišu osobinu. U populacijama sa visokom varijansom i visokim prosečnim prinosom može se očekivati pojava transgresivnih segreganata, tj. potomstva boljeg od boljeg roditelja. Ukrštanjem genetički divergentnih roditelja dobija se potomstvo sa visokom varijansom, *Kisha i sar.*, 1997, *Manjarrez-Sandovall i sar.*, 1997.

Iako, teoretski posmatrano, genetička distanca (GD) roditelja ima veliki potencijal za predviđanje osobina potomstva, podaci iz literature se razlikuju. *Barosso i sar.*, 2003, nalaze značajnu negativnu korelaciju između GD roditelja i prinosa potomstva. *Cornelius i Snedler*, 2002, dobijaju smanjenje prinosa u potomstvu ukrštanjem introdukovane divergentne germplazme i domaćih elitnih sorti, uz istovremenu identifikaciju bar jedne superiorne linije u svakoj populaciji.

Cilj ovog rada bio je da se primenom RAPD markera utvrdi GD roditeljskih komponenti korišćenih za ukrštanje i sagleda povezanost genetičke distance roditelja sa prinosom ostvarenim u potomstvu.

### Materijal i metode

Kao materijal za analizu polimorfizma DNK korišćeno je šest genotipova soje: ZPS 015, L 91-3103, Ravnica, Shine, L 90-14 i ZPS 107. Svi genotipovi odlikuju se dobrim agronomskim svojstvima i razlikuju se po poreklu. Genomska DNK izolovana je iz listova (protokol *Rogers-a i Bendich-a*, 1985) i amplifikovana PCR reakcijom pomoću 18 RAPD prajmera (protokol *Williams-a i sar.*, 1990). Razdvajanje fragmenata izvršeno je elektroforezom na agaroznom gelu. Rezultati dobijeni na osnovu elektroforegrama prevedeni su u binarne podatke koji su poslužili za računanje koeficijenata sličnosti (GS) između parova genotipova po *Jaccard-u*, 1908, i *Soakal-Michener-u*, 1958, genetičkih distanci (GD) između ZPS 015 i ostalih genotipova, i klaster analizu pomoću kompjuterskog programa SPSS 13.0 for Windows, *SPSS Inc.*, 2004. Za prevođenje koeficijenta sličnosti u genetičke distance poslužio je izraz  $GD=1-GS$ .

Sorta ZPS 015 je korišćena kao zajednički roditelj u ukrštanjima sa navedenih pet genotipova. Ova sorta nastala je selekcijom iz američke populacije sa egzotičnom germplazmom i pretpostavka je da se po genetičkoj strukturi razlikuje od ostalih genotipova. Potomstvo pet kombinacija ukrštanja : ZPS 015 x L 91-3103, ZPS 015 x Ravnica, ZPS 015 x Shine, ZPS 015 x L 90-14 i ZPS 015 x ZPS 107 odabirano je po *pedigree* metodu do F4 generacije. Po deset linija svake kombinacije posejano je zajedno sa roditeljskim komponentama tokom 2003. i 2004. godine u oglede po RCB dizajnu, na lokaciji Zemun Polje, u tri ponavljanja. Meren je prinos svake linije i izračunat prosečan prinos svakog od pet potomstava. Međuzavisnost genetičke distance roditelja i prinosa u potomstvu izražena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ranga. Za svako potomstvo pomoću LSD testa određen je

broj linija (od ukupno 10) boljih od boljeg roditelja i upoređen sa GD roditelja.

### Rezultati i diskusija

RAPD analizom šest genotipova soje dobijeno je ukupno 75 fragmenata, od čega je 15 bilo polimorfno te je vrednost polimorfizma iznosila 20%. Nizak nivo polimorfizma u skladu je sa rezultatim drugih autora koji su radili na ovoj problematici, **Žarković**, 2000, a može se pripisati i malom broju prajmera korišćenih u ovom radu, kao i analizi relativno malog broja genotipova.

Na osnovu matrica sličnosti po Jaccard-u (Tabela 1) i Soakal-Michener-u (Tabela 2), urađena je klaster analiza i konstruisani su odgovarajući dendrogrami, koji su pokazali gotovo identičnu sliku grupisanja genotipova na osnovu dva navedena koeficijenta sličnosti. Dendrogram (Slika 1) pokazuje da se genotipovi L 91-3103, Shine, Ravnica, ZPS 107 i ZPS 015 svrstavaju u jedan glavni klaster (I), u okviru kojeg se uočava subklaster (L 91-3103, Shine, Ravnica) kojem su na većoj udaljenosti pridodati genotipovi ZPS 107 i ZPS 015. Genotip L 90-14 (II) figuriše kao nezavisan u odnosu na glavni klaster. Poređenjem koeficijenata sličnosti (Jaccard-ovog i Soakal-Michener-ovog) pomoću Spearmanove korelacije nađena je visoko signifikantna vrednost koeficijenta od 0,975.

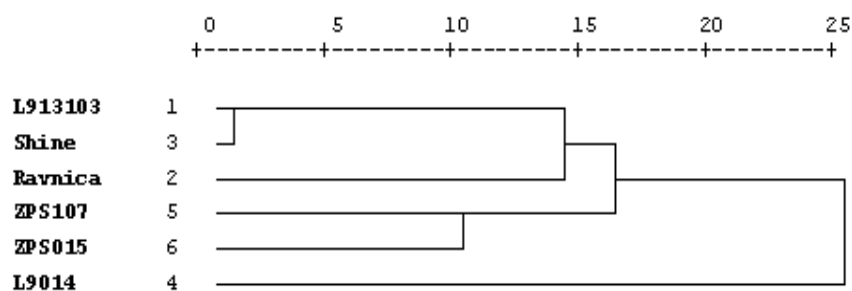
Tabela 1. Koeficijenti sličnosti po Jaccard-u na osnovu RAPD markera  
Coefficients of Similarity after Jaccard based on RAPD markers

Genotip - Genotype	L913103	Ravnica	Shine	L9014	ZPS107
Ravnica	0,932				
Shine	0,986	0,919			
L9014	0,893	0,877	0,907		
ZPS107	0,919	0,930	0,932	0,865	
ZPS015	0,892	0,901	0,905	0,813	0,943

Tabela 2. Koeficijenti sličnosti po Soakal-u i Michener-u na osnovu RAPD markera  
Coefficients of Similarity after Soakal and Michener based on RAPD markers

Genotip - Genotype	L913103	Ravnica	Shine	L9014	ZPS107
Ravnica	0,933				
Shine	0,987	0,920			
L9014	0,893	0,880	0,907		
ZPS107	0,920	0,933	0,933	0,867	
ZPS015	0,893	0,907	0,907	0,813	0,947

Izračunate genetičke distance između ZPS 015 i ostalih roditeljskih genotipova kretale su se od 0,057 do 0,187 (po Jaccard) i od 0,053 do 0,187 (Sokal i Michener). Najmanja genetička distanca utvrđena je između ZPS 015 i ZPS 107 a najveća između ZPS 015 i L 90-14 (Tabela 3), na osnovu oba koeficijenta.



Slika 1. Dendrogram šest genotipova soje dobijen na osnovu RAPD markera (po Jaccard-u)  
Dendrogram of six soybean genotypes based on RAPD markers (after Jaccard)

Potomstvo kombinacije sa najmanjom genetičkom distancom ostvarilo je najbolji prosečan prinos (podaci o prinosu pojedinačnih linija pet potomstava nisu prikazani u radu) i imalo najveći broj linija statistički značajno boljih od boljeg roditelja (Tabela 3), što je u svim kombinacijama, osim u kombinaciji ZPS 015xRavnica, bio genotip ZPS 015.

Zavisnost prosečnog prinosa potomstva od genetičke distance roditelja utvrđena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ranga koji je iznosio -0,4 za distancu računatu po Jaccard-u, odnosno -0,359 za distancu po Sokal-u i Michener-u (*simple matching* - SM). Izračunati koeficijenti korelacije nisu bili statistički značajni. Nesignifikantna korelacija može se objasniti činjenicom da je većina RAPD markera nasumično pokriva genom i da je povezana sa sekvencama koje se fenotipski ne ispoljavaju. Da bi predviđanje osobina potomstva na osnovu GD roditelja bilo preciznije, potrebno je identifikovati markere koji su povezani sa lokusima kvantitativnih osobina, *Helms i sar.*, 1997.

Tabela 3. Genetičke distance (GD) između roditelja, prosečan prinos potomstva F4 generacije i broj superiornih genotipova u potomstvu  
Genetic Distances (GD) between Parents, Mean Yield of F4 Progeny, and the Number of Superior Genotypes in the Progeny

Kombinacija Combination	GD između roditelja (Jaccard) GD between parents (Jaccard)	GD između roditelja (SM) GD between parents (SM)	Pros. prinos potomstva (t/ha) Mean yield of progeny (t/ha)	Broj superiornih genotipova* Number of superior genotypes*
ZPS 015xL913103	0.108	0.107	4.476	0
ZPS 015xRavnica	0.099	0.093	4.832	0
ZPS 015xShine	0.095	0.093	4.889	2
ZPS 015xL 90 14	0.187	0.187	5.02	2
ZPS 015xZPS 107	0.057	0.053	5.15	3

\* genotipovi sa prinosom statistički značajno višim od prinosa boljeg roditelja; značajno na nivou  $\alpha = 0,05$

\* genotypes that statistically significantly overyielded a high yielding parent; significant at  $\alpha = 0.05$

### Zaključak

Dobijena vrednost polimorfizma (20%) i relativno niske vrednosti GD između roditeljskih parova ukazuju na slab diverzitet početnog materijala za selekciju. Kombinacija ukrštanja sa najmanjom GD između roditelja dala je potomstvo sa najvišim prinosom i najvećom proporcijom superiornih genotipova.

Korelacija između GD roditelja i prinosa u potomstvu dobijena u ovom radu je negativna i nesignifikantna, i govori u prilog tome da genetička distanca roditelja procenjena RAPD markerima ne može biti pouzdan indikator za predviđanje osobina potomstva, u prvom redu prinosa.

### Literatura

- Barosso, A.V.P., O.G. Isaias, M. L.Vieira, C.E. Pulcinelli, R. Vencovski and C.T. Santos Dias** (2003): Predicting performance of soybean populations using genetic distances estimated with RAPD markers. *Genet. Mol. Biol.* **26** (3): 343-348.
- Cornelius, B.K. and C.H. Sneller** (2002): Yield and molecular diversity of soybean lines derived from crosses of Northern and Southern elite parents. *Crop Sci.* **20**: 187-190.
- Gizlice, Z., T.E. Carter, Jr. and J.W. Burton** (1994): Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947 and 1988. *Crop Sci.* **34**: 1143-1151.
- Helms, T., J. Orf, G. Vallad and P. McClean** (1997): Genetic variance, coefficient of parentage, and genetic distance of six soybean populations. *TAG* **94**: 20-26.
- Jaccard, P.** (1908): Nouvelles recherches sur la distribution floral. *Bull. Soc. Vand. Sci. Nat.* **44**: 223-270
- Kisha, T.J., C.H. Sneller and B.W. Diers** (1997): Relationship between genetic distance among parents and genetic variance in populations of soybean. *Crop Sci.* **37**: 1317-1325.
- Manjarrez-Sandoval, P., T.E. Carter, Jr., D.M. Webb and J.W. Burton** (1997): RFLP genetic similarity estimates and coefficient of parentage as genetic variance predictors for soybean yield. *Crop Sci.* **37**: 698-703.
- Rogers, S.O. and A.J. Bendich** (1985): Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. *Plant Mol. Biol.* **5**: 69-76.
- Soakal, R.R. and C.D. Michener** (1958): A statistical method for evaluating systematic relationships. *Univ. Kans. Sci. Bull.* **38**: 1409-1438.
- SPSS Inc.** (2004): Hierarchical Cluster Analysis, SPSS for Windows, Version 13.0, Chicago, IL, USA.

- Williams, J.G.K, A.R. Kubelik, K.J. Livak, J.A. Rafalski and S.V. Tingey** (1990): DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- Žarković, J.** (2000): Genetička udaljenost genotipova soje (*Glycine max.* L. Merr.). Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.

Primljeno: 25.11.2005.  
Odobreno: 15. 05.2006.

\* \*  
\*

## **Evaluation of Genetic Diversity in Soybean Genotypes with RAPD Markers**

- Original scientific paper -

Vesna PERIĆ, Iva ERIĆ, Snežana DRINIĆ-MLADENVIĆ and  
Mirjana SREBRIĆ  
Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade-Zemun, Serbia

### **S u m m a r y**

The choice of parental mating pairs is of a crucial importance in the breeding process. Obtaining a superior progeny can be expected if the parental lines, used for hybridisation, are genetically different and possess as much as possible independent loci for a desirable trait, with alleles different in each parent.

The utilisation of genetic markers can provide the previous information on the genetic similarity of parents, and based on it, the performance of traits in the progeny can be predicted.

The objective of this study was to estimate a genetic distance between the genotype ZPS 015 and genotypes L 91-3103, Ravnica, Shine, L 90-14 and ZPS 107. The genotype ZPS 015 was used as a parent in crosses to other five genotypes. All genotypes have good agronomic traits, so it was supposed that crosses among them could result in a superior progeny. Genomic DNA of these six genotypes was amplified with 18 RAPD primers. The results obtained (presence or absence of the DNA band) were transformed into a binary system, and were used to calculate Jaccard's similarity coefficient and a simple matching coefficient. The level of polymorphism detected (20%) and genetic distances calculated suggest a small genetic distance between parental pairs, which is in accordance with previous analyses of soybean genome polymorphism. The shortest, i.e. greatest genetic distance, by both coefficients, was determined between genotypes ZPS 015 and L 90-14, i.e. ZPS 015 and ZPS 107, respectively.

The data on grain yield of the F4 progeny by each cross, obtained in the two-year trial, showed a negative and non significant correlation with the genetic distance of parents.

Received: 25/11/2005

Accepted: 15/05/2006

*Adresa autora:*

Vesna PERIĆ  
Institut za kukuruz "Zemun Polje"  
Slobodana Bajića  
111185 Beograd-Zemun  
Srbija  
E-mail: vesnaperic@yahoo.com