

Genetička varijabilnost sadržaja fosfora u semenu soje

- Originalan naučni rad -

Vesna PERIĆ, Vesna DRAGIČEVIĆ, Slobodanka SREDOJEVIĆ,
Mirjana SREBRIĆ, Dušanka TERZIĆ i Snežana MLADENOVIĆ DRINIĆ
Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun

Izvod: Poslednjih godina u svetu su razvijeni selekcionni programi sa ciljem stvaranja genotipova soje sa smanjenim sadržajem fitina uz povećanje koncentracije neorganskog fosfora u semenu. Cilj našeg rada je utvrđivanje genetičke varijabilnosti sadržaja fosfora, fitina i neorganskog fosfora u semenu genotipova soje i na osnovu dobijenih rezultata izbor genotipova za buduće programe selekcije na smanjeni sadržaj fitina. Ispitano je trinaest genotipova i utvrđeno je da se sadržaj fitina kretao od 3,35 g kg⁻¹ do 4,43 g kg⁻¹, prosečno 4,02 g kg⁻¹. Koncentracija neorganskog fosfora se značajno razlikovala između ispitivanih genotipova i bila je u opsegu od 0,16 g kg⁻¹ do 0,516 g kg⁻¹. Sorta Lana, sa smanjenim sadržajem tripsin inhibitora, ima nizak sadržaj fitina i visok sadržaj neorganskog fosfora. Genotip L1701, sa prirodno niskim sadržajem fitina, biće uključen u selekcionne programe za smanjeni sadržaj fitina u semenu soje.

Ključne reči: Fitin, fosfor, genotip, soja.

Uvod

U semenu soje fosfor je predominantno vezan u organskoj komponenti fitinu, što ograničava dostupnost fosfora u ishani monogastičnih životinja s obzirom da u digestivnom traktu nemaju enzim fitazu koja je neophodna za iskorišćavanje ove forme fosfora, tako da veliki deo endogenog fosfora dospeva u spoljašnju sredinu, **Erdman**, 1979. Poslednjih godina u svetu su intenzivirana istraživanja u cilju stvaranja genotipova soje sa smanjenim sadržajem fitina uz povećanje koncentracije neorganskog fosfora u semenu. Identifikovani su mutanti, genotipovi sa smanjenim sadržajem fitina, kod kojih je sadržaj fitinskog fosfora znatno smanjen, **Raboy i sar.**, 2000, **Wilcox i sar.**, 2000. Drugi pristup da se smanji sadržaj fitina i poveća neorganski fosfor (Pi) je primenom selekcije koja koristi značajno kvantitativno

J. Sci. Agric. Research/Arh. poljopr. nauke 70, 249 (2009/1), 79-84

genetičko variranje za ova svojstva. Uspešnost ovog pristupa u velikoj meri zavisi od genetičke varijabilnosti raspoložive germplazme za ova svojstva i poznavanja sadržaja fitina i neorganskog fosfora u sortama i genotipovima koji su u uključeni u proizvodnju ili selekzione programe (**Raboy** i **Dickson**, 1984. Značajna genetička varijabilnost za fitin i neorganski fosfor je utvrđena kod pšenice, **Raboy i sar.**, 1991, ovsa, **Maga**, 1982, kukuruza, **Raboy i sar.**, 1989, i soje, **Israel i sar.**, 2006. Cilj našeg rada je da se utvrdi genetička varijabilnost sadržaja fosfora, fitina i neorganskog fosfora u zrnju trinaest genotipova soje i na osnovu dobijenih rezultata izaberu genotipovi za buduće programe selekcije na smanjeni sadržaj fitina.

Materijal i metode

Seme sorti soje Laura i Lana, sa smanjenim sadržajem tripsin inhibitora, i 11 genotipova iz oplemenjivačkog programa soje u Institutu za kukuruz "Zemun Polje" su ispitivani za sadržaj fitina, neorganskog fosfora, proteina i ulja.

Za ispitivanje sadržaja frakcija fosfora, fitinski, neorganski PO_4 jon, u semenu soje izvršena je modifikacija ekstrakcionih medijuma primenjenih kod kukuruza, **Sredojević**, 1990, **Sredojević** i **Dragičević**, 2009. Pre svega, brašno soje je moralo prvo da bude odmašćeno refluksijom sa etrom u Soxlet aparaturi. Pored toga, upotrebljena su dva ekstrakciona sredstva: 5% trihlorsirćetna kiselina (THSK) za PO_4 jon i 0,15% natrijum askorbat za fitin. Oba navedena ekstrakciona sredstva primenjena su u odnosu 1:40, odnosno, 0,2000 g sa 8,0 ml. Obzirom da se radi o semenu druge kulture i drugačijeg kvantitativnog sastava, kada su u pitanju navedena jedinjenja, morala su da se izvrše razblaženja različita u odnosu na seme kukuruza, **Sredojević** i **Dragičević**, 2009. Sve analize su urađene iz standardnog uzorka od 50 prosečnih zrna soje čija je masa određena na četiri decimale radi određivanja sadržaja po gramu. Proteini su određeni po metodi koji su razvili **Lowery i sar.**, 1951.

Rezultati i diskusija

Najveći deo fosfora u semenu soje, oko 75% je u formi fitina, **Raboy** i **Dickson**, 1984. Uloga fitina u semenu je sledeća: 1) rezerva fosfora, 2) skladište energije, 3) konkurent za adenozin trifosfat tokom brze biosinteze fitina tokom sazrevanja semena kada je metabolizam semena inhibiran; 4) vezivanje dvovalentnih katjona neophodnih za kontrolu ćelijskih procesa koji se oslobađaju tokom klijanja pod uticajem endogenih fitaza; i 5) regulator nivoa dostupnog Pi u semenu, **Angel i sar.**, 2002.

U ispitanim genotipovima soje sadržaj fitina se kretao od $3,35 \text{ g kg}^{-1}$, u genotipu L1701, do $4,43 \text{ g kg}^{-1}$ u genotipu L1614, prosečno $4,02 \text{ g kg}^{-1}$, (Tabela 1). Slične vrednosti za sadržaj fitina u semenu soje dobili su **Raboy** i **Dickson**, 1984, i **Israel i sar.**, 2006.

Tabela 1. Sadržaj fitina, neorganskog fosfora, proteina i ulja u smenu soje
Content of, Phytate, Inorganic Phosphorus, Proteins and Oil in Soya Bean Seeds

Genotip Genotype	Neorganski fosfor Inorganic Phosphorus	Fitin Phytate	Proteini Proteins	Ulje Oil
L1597	0,397	4,10	389,85	202,97
L1614	0,318	4,43	350,35	207,33
L1623	0,425	4,16	280,59	211,75
L15627	0,516	4,34	382,02	200,86
L1629	0,449	4,20	345,89	195,28
L1661	0,161	4,25	379,17	204,13
L1668	0,324	4,04	274,55	206,95
L1686	0,395	3,99	332,02	197,42
L1701	0,481	3,35	275,61	214,36
Nena	0,359	3,66	403,19	169,46
Balkan	0,335	3,91	372,05	202,21
Lana	0,508	3,65	380,95	214,83
Laura	0,415	4,21	425,96	201,35

Neorganski fosfor je drugi važan oblik fosfora, mada je prisutan u relativno niskim koncentracijama i stoga čini mali deo ukupnog fosfora u semenu. Koncentracija neorganskog fosfora se značajno razlikovala među ispitivanim genotipovima (Tabela 1). Najveći sadržaj Pi, 0,516 g kg⁻¹, imao je genotip L15627 a najmanji, 0,16 g kg⁻¹, genotip L1661, prosečno 0,39 g kg⁻¹.

Istraživanja kod kukuruza su pokazala da postoji veća genetička varijabilnost za neorganski fosfor nego za fitin, *Lorenz i sar.*, 2007, 2008, ali rezultati na soji su različiti i ukazuju da je teže otkriti značajnije razlike između genotipova za neorganski fosfor nego za fitin, *Israel i sar.*, 2006, *Raboy i Dickinson*, 1993.

Sadržaj ukupnih proteina kod ispitivanih genotipova kretao se od 274,55 g kg⁻¹ koliko je izmereno kod genotipa L1668 do 425,96 g kg⁻¹ kod sorte Laura (Tabela 1). Sorta Lana, sa smanjenim sadržajem tripsin inhibitora ima nizak sadržaj fitina i visok sadržaj neorganskog fosfora. Najniži sadržaj fitina ima genotip L1701, ali ima i nizak sadržaj proteina. Visoki sadržaj proteina je obično povezan sa nižim sadržajem ulja u semenu soje, *Hartwig i Hinson*, 1972, *Helms i Orf*, 1998, *Wilson*, 2004.

Sadržaj ulja je bio u značajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem proteina ($r=-0,557$) i kretao se u opsegu od 169,46 g kg⁻¹ do 214,83 g kg⁻¹. Najniži sadržaj ulja je imala sorta Nena, a najviši sorta Lana.

Širok opseg variranja za sadržaj fitina, neorganskog fosfora i proteina ukazuje na postojanje odgovarajuće genetičke varijabilnosti da se razviju sorte sa niskim sadržajem fitina i povećanim sadržajem neorganskog fosfora i proteina.

Korelacija među svojstvima je važna, jer ona ukazuje kako promene u jednom svojstvu utiču na promene u drugom svojstvu. Dosadašnja istraživanja na genotipovima sa niskim sadržajem fitina su pokazala jaku recipročnu međuzavisnost sadržaja fitina i sadržaja neorganskog fosfora u semenu soje, *Larson i sar.*, 2000,

Wilcox sar., 2000. Nasuprot ovim istraživanjima **Israel i sar.**, 2006, su utvrdili korelacione koeficijente, 0,71 i 0,63 između ova dva svojstva u genotipovima iz V i VI grupe zrenja. U našim istraživanjima utvrđena je negativna korelacija između sadržaja fitina i sadržaja neorganskog fosfora ($r=-0,30$) i pozitivna korelacija između sadržaja fitina i sadržaja proteina ($r=0,32$). **Raboy i Dickson** (1984) su takođe našli pozitivnu korelaciju između sadržaja fitina i koncentracije proteina u semenu soje, a **Israel sar.**, 2006, su utvrdili pozitivnu, ali malu korelaciju između ovih svojstava. Korelacija između sadržaja fitina i sadržaja ulja, kao i sadržaja neorganskog fosfora i sadržaja proteina bila je blizu nule, a između sadržaja neorganskog fosfora i sadržaja ulja utvrđena je negativna korelacija ($r=-0,34$).

Zaključak

Sorta Lana, sa smanjenim sadržajem tripsin inhibitora, ima nizak sadržaj fitina i za $0,118 \text{ g kg}^{-1}$ veći sadržaj neorganskog fosfora od proseka. Genotip L1701 ima prirodno nizak sadržaj fitina, za $0,67 \text{ g kg}^{-1}$ niži od proseka, ali i nizak sadržaj proteina. Značajna genetička varijabilnost za sadržaj fosfora u ispitivanim genotipovima ukazuje da genotipovi sa niskim sadržajem fitina i visokim sadržajem neorganskog fosfora mogu da se koriste kao početni materijal u programima selekcije u cilju stvaranja genotipova sa niskim sadržajem fitina. Mnogi ciklusi selekcije će biti potrebni da se dostigne željeni cilj ali genetička varijabilnost za ova svojstva ukazuje da je genetička dobit ostvarljiva, naročito ako se veći broj genetički divergentnih genotipova uključi u program selekcije za smanjeni sadržaj fitina u zrnu soje.

Zahvalnica

Ovaj rad je urađen uz podršku Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, kao deo projekta TR-20114.

Literatura

- Angel, R. N., M. Tamim, T.J. Applegate, A.S. Dhandu and L.E. Ellestad** (2002): Phytic Acid Chemistry: Influence on Phytin-Phosphorus Availability and Phytase Efficacy. *J. Appl. Poult. Res.* 11: 471-480.
- Erdman, J.W.** (1979): Oilseed phytates: Nutritional implications. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56: 736-741.
- Hartwig, E.E. i K. Hinson** (1972): Association between chemical composition of seed and seed yield of soybean. *Crop Sci.* 12: 829-830
- Helms T.C. and J.H. Orf** (1998): Protein, oil and yield in soybean lines selected for increased protein. *Crop Sci.* 38: 707-711.

- Israel, D.W., P. Kwanynen and J.W. Burton** (2006): Genetic variability for phytic acid phosphorus and inorganic phosphorus in seed of soybean in maturity groups V, VI, and VII. *Crop Sci.* 46: 67-71.
- Larson, S.R., J.N. Rutger, K.A. Young and V. Rabo** (2000): Isolation and genetic mapping of a non-lethal rice (*Oriza sativa* L.) low phytic acid mutation. *Crop Sci.* 40: 1397-1405.
- Lorenz A., P. Scott and K. Lamkey** (2007): Quantitative determination of phytate and inorganic phosphorus for maize breeding. *Crop Sci.* 47: 598-604.
- Lorenz A., P. Scott and K. Lamkey** (2008): Genetic variation and breeding potential of phytate and inorganic phosphorus in a maize population. *Crop Sci.* 48: 79-84.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, F.A. Lewis and R.J. Randall** (1951): Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Maga, J.A.** (1982): Phytate: its chemistry, occurrence, food interactions, nutritional significance, and methods of analysis. *J. Agric. Food Chem.* 30 (1): 1-9.
- Raboy, V., and D.B. Dickinson** (1984): Effect of phosphorus and zinc nutrition on soybean seed phytic acid and zinc. *Plant physiology* 75:1094-1098.
- Raboy, V., and D.B. Dickinson** (1993). Phytic acid levels in seeds of *Glycine max* and *G. soja* as influenced by phosphorus status. *Crop Sci.* 33:1300-1305.
- Raboy, V., F.E. Below and D.B. Dickinson** (1989): Alternation of maize kernel phytic acid levels by recurrent selection for protein and oil. *J. Hered.* 80: 311-315.
- Raboy, V., Gerbasi, P. F., Young, K. A., Stoneberg, S. D., Pickett, S. G., Bauman, A. T., Murthy, P.P.N., Sheridan, W. F. & Ertl, D. S.** (2000): Origin and seed phenotype of maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1. *Plant Physiol* 124: 355-368
- Raboy, V., M.M. Norman, G.A. Taylor, S.G. Pickett** (1991): Grain phytic acid and protein are highly correlated in winter wheat. *Crop Sci.* 31: 631-635.
- Sredojević, S.** (1990): Modified, rapid spectrophotometric method for phytin determination in maize seed, leaf and root. Book of Abstracts of the Symposium on Bioanalytical Methods, September 4-7, 1990, Prague, Czechoslovakia, pp. 114.
- Sredojević, S. and V. Dragičević** (2009): The quantitative determination of antioxidative-protective and some storage substances of seeds and leaves-modification of methodological approach. *J. Sci. Agric. Research* (in press).
- Wilcox, J.R., G.S. Premashandra, K.A. Young, and V. Raboy** (2000): Isolation of high seed inorganic P, low-phytate soybean mutants. *Crop Sci.* 40: 1601-1605.
- Wilson, R.F.** (2004): Seed Composition, In: Soybeans: Improvement, Production and Uses, 3rd ed., H.R.Boerm and J.E. Specht (ed), ASA, CSSA, SSA, Madison, WI, USA.

Primljeno: 10.04.2009.

Odobreno: 16.04.2009.

The Genetic Variability of the Phosphorus Content in Soya Bean Seeds

- Original scientific paper -

Vesna PERIĆ, Vesna DRAGIČEVIĆ, Slobodanka SREDOJEVIĆ,
Mirjana SREBRIĆ, Dušanka TERZIĆ and Snežana MLADENOVIĆ DRINIĆ
Maize Research Institute, Zemun Polje, Belgrade-Zemun

Summary

In recent years breeding programmes with the aim of deriving soya bean genotypes with a reduced phytate content and an increased concentration of inorganic phosphorus in grain have been developed all over the world. The objective of the present study was to determine the genetic variability of the contents of phosphorus, phytate and inorganic phosphorus in seeds of soya bean genotypes and according to obtain results to select genotypes for the further selection programmes for the reduced phytate content. Thirteen genotypes were observed and the phytate content in them varied from 3.35 g kg⁻¹ to 4.43 g kg⁻¹ (4.02 g kg⁻¹ on the average). The concentration of inorganic phosphorus significantly differed over observed genotypes and ranged from 0.16 g kg⁻¹ to 0.516 g kg⁻¹. The cultivar Lana, with the reduced trypsin inhibitor content, has a low phytate content and a high inorganic phosphorus content. The genotype L1701 with naturally low phytate content shall be included into selection programmes for the reduced phytate content in soya bean seeds.

Received: 10/04/2009

Accepted: 16/04/2009

Adresa autora:

Vesna PERIĆ

Institut za kukuruz "Zemun Polje"

Slobodana Bajića 1

11185 Beograd-Zemun

Srbija

E-mail: vperic@mrizp.co.yu