

Мирјана Шијачић-Николић
Василије Исајев
Косана Константинов
Снежана Младеновић-Дринић

UDK: 630*165+174.7:547.96
Оригинални научни рад

ПОЛИМОРФИЗАМ ПРОТЕИНСКИХ МАРКЕРА КОД HALF-SIB ЛИНИЈА ОМОРИКЕ

Извод: У раду су приказани резултати утврђивања степена генетског полиморфизма линија полусродника, уграђених у генеративну семенску плантажу оморике који припадају различитим варијететима оморике: var. *semidihotomy*, var. *serbica* и var. *nana*, применом протеинских маркера. Анализа у солима растворљивих протеина, семена 12 генотипова оморике, обављена је раздвајањем - електрофорезом на полиакриламидном гелу методом *Leamli* (1970). Добијени електрофореграми послужили су као основа за израчунавање коефицијента сличности по формули *Shoen*-а (1972), како између индивидуа унутар самих линија, тако и међу линијама. Генетска блискост односно удаљеност између анализираних материјала утврђена је применом кластер анализе.

Кључне речи: линије полусродника оморике, полиморфизам, протеински маркери

POLYMORPHISM OF PROTEIN MARKERS IN SERBIAN SPRUCE HALF-SIB LINES

Abstract: This paper present the resultes of determination of the degree of genetic polymorphism of Serbian spruce half-sib lines belonging to different varieties: var. *semidihotomy*, var. *serbica* and var. *nana*, incorporated in the seedling seed orchard, by the application of protein markers. The analysis in the salts of soluble proteins of the endosperms of 12 Serbian spruce genotypes was performed by separation - electrophoresis on the polyacrylamide gel using *Leamli* (1970) method. The obtained electrophoregrams were the base for the calculation of the coefficient of similarity, by *Shoen* (1972) formula, both between individuals within the lines and between the lines. The genetic distance of the analysed material was assessed

мр Мирјана Шијачић-Николић, асистент, Шумарски факултет Универзитета у Београду
др Василије Исајев, редовни професор, Шумарски факултет Универзитета у Београду
др Косана Константинов, научни саветник, Институт за кукуруз „Земун Поље“ у Земуну
др Снежана Младеновић-Дринић, научни сарадник, Институт за кукуруз „Земун Поље“ у Земуну

by cluster analysis. The study results show that phenotypic variability between the analysed varieties of Serbian spruce is genetically determined.

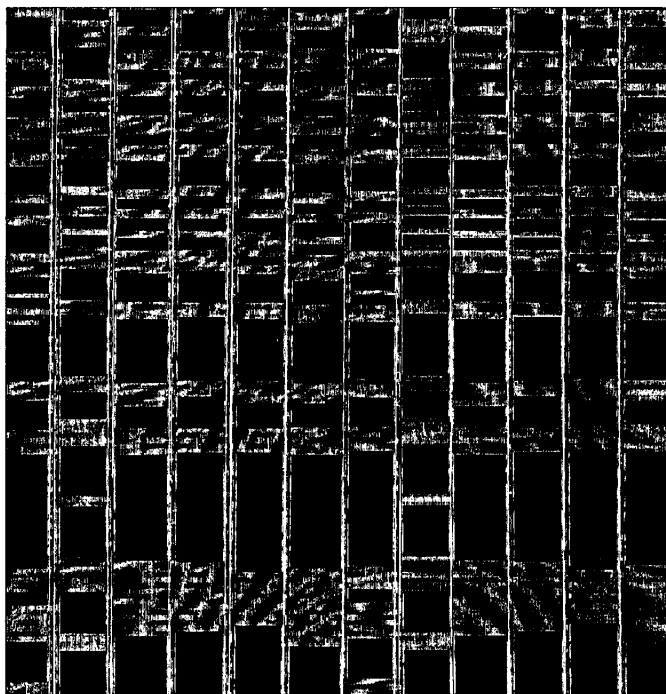
Key words: half-sib lines of Serbian spruce, protein markers, polymorphism

1. УВОД

Досадашње процене генетичке варијабилности линија полусродника уграђених у генеративну семенску плантажу оморике, базиране су на морфолошким карактеристикама (Исајев В., Туцовић А., Матаруга М., Шијачић-Николић М., 1996). Међутим, морфометријска својства су подложна утицају фактора спољашње средине, што покрива део експресије самог генотипа.

Из тих разлога, за прецизнију процену генетичке варијабилности генотипова унутар линија полусродника, као и између њих, коришћени су молекуларни маркери помоћу којих се утицај фактора спољашње средине своди на минимум, а посматра

ПЦ2-А ПЦ2-Б ПЦ2-Ц ПЦ4-А ПЦ4-Б ПЦ4-Ц ИБ1-А ИБ1-Б ИБ1-Ц ИД1-1 ИД1-2 ИД1-3



Слика 1. Електрофореграм (компјутерски обрађен) у солима растворљивих протеина изолованих из семена 12 генотипова

Picture 1. Electrophoregrams in the salt of soluble proteins isolated from endosperms of 12 Serbian spruce genotypes

се промеливост која се налази под директном генетичком контролом (Константинов К., Младеновић-Дринић С., 2000).

2. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Полиморфизам протеинских маркера линија полусродника оморике утврђен је на основу одабраних генотипова три варијетета:

Б-варијетет *semidihotomy* - без видљивих биотичких или абиотичких узрока спонтано се јавља „двовршност - лажна дихотомија“;

Ц-варијетет *serbica* - тип гранања карактеристичан за типичан хабитус оморике (високо-вретенаста крошња);

Д-варијетет *nana* - полупатуљци, максималне висине до 1,8 m.

Анализа у солима растворљивих протеина, семена 12 генотипова оморике, из четири линије полусродника: 1Ц2, 1Ц4, 1Б1 и 1Д1, обављена је раздвајањем - електрофорезом на полиакриламидном гелу методом Leammli (1970) (Karp A., Kresovich S., Bhat K.V., Ayad W.G., Hodgkin T., 1997).

Добијени електрофореграми, који су обрађени компјутерским програмом „Anylist“ (слика 1) послужили су као основа за израчунавање коефицијента сличности, по формули Sheep-а (1972) (Младеновић-Дринић С., 1995) како унутар самих линија, тако и између њих. Генетска блискост, односно удаљеност, између анализираних материјала утврђена је применом кластер анализе.

3. РЕЗУЛТАТИ СА ДИСКУСИЈОМ

На основу добијених електрофореграма, а у циљу утврђивања генетичке блискости односно удаљености анализираних индивидуа, тј. линија, утврђен је коефицијент сличности упоређивањем броја и распореда протеинских фракција - трака. Варијабилност коефицијента сличности на индивидуалном, односно линијском, нивоу приказан је у табелама 1 и 2.

Добијени подаци на индивидуалном нивоу показују врло варијабилне вредности индекса сличности који се креће у дијапазону од 34,28% (између индивидуе 1Ц4-Б и 1Б1-А) до 91,66% (између индивидуе 1Ц4-Б и 1Ц4-Ц).

Индекс сличности на нивоу линија показује највећу унутарлинијску сличност код линија 1Д1 и 1Ц4, код којих индекс сличности износи 85%, односно 80,83%, док је индекс сличности унутар линија 1Б1 и 1Ц4 нешто мањи и износи 64,26%, односно 61,76%. Добијени подаци међулинијског индекса сличности имају вредности овог параметра у распону од 44,51-67,24%. Највећи индекс сличности забележен је између линија 1Ц2 и 1Ц4 и износи 67,24%, што се могло очекивати с обзиром да се ради о линијама које припадају истом варијетету „Ц“. Најмањи индекс сличности

Табела 1. Индекс сличности између индивидуа унутар анализираних линија

Table 1. Index of similarity between individuals intra half-sib lines

	1Ц2-А	1Ц2-Б	1Ц2-Ц	1Ц4-А	1Ц4-Б	1Ц4-Ц	1Б1-А	1Б1-Б	1Б1-Ц	1Д1-А	1Д1-Б	1Д1-Ц
1Ц2-А		54,28	69,23	73,33	67,75	73,33	41,67	45,94	42,00	61,11	54,29	57,15
1Ц2-Б			45,45	44,12	42,86	45,46	53,13	51,52	53,13	52,78	47,36	51,42
1Ц2-Ц				95,83	75,00	87,50	40,63	39,39	51,52	57,57	48,57	53,13
1Ц4-А					70,00	91,66	43,75	37,14	52,94	54,54	53,33	54,54
1Ц4-Б						85,18	34,28	40,45	50,00	58,80	52,94	50,00
1Ц4-Ц							46,15	42,85	52,94	55,88	51,52	54,55
1Б1-А								81,48	47,05	44,44	40,00	42,86
1Б1-Б									52,94	52,77	48,57	51,52
1Б1-Ц										83,87	80,00	83,33
1Д1-А											83,33	86,66
1Д1-Б												85,42
1Д1-Ц												

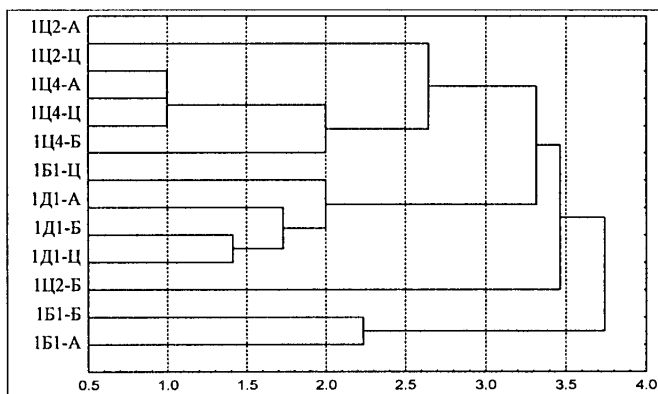
Табела 2. Индекс сличности између линија полусродника

Table 2. Index of similarity among half-sib lines

	1Ц2	1Ц4	1Б1	1Д1
1Ц2		61,76	67,24	46,54
1Ц4			80,83	44,51
1Б1				64,26
1Д1				

забележен је код линије 1Ц4 и 1Б1, односно линије 1Ц2 и 1Б1, и износи 44,51%, односно 46,55%, што се може објаснити генетским разликама ових линија, односно генотипова материнских стабала од којих оне потичу. Индекс сличности од 54,01%, тј. 53,71%

између линија 1Ц4 и 1Д1, односно 1Ц2 и 1Д1, који се може сматрати значајним, тумачи се на следећи начин: 1) сличном генетичком конституцијом линија варијетета „Ц“ и „Д“; 2) просторним распоредом ових линија - једна поред друге, па је вероватноћа њиховог спонтаног опрашивања већа од просека на нивоу целе плантаже.



Графикон 1. Дендрограм кластер анализе урађен на основу протеинских маркера, на нивоу 12 индивидуа различитих линија полусродника

Figure 1. Cluster analysis dendrogram based on protein markers at the level of 12 individuals of different half-sib lines

У циљу утврђивања генетичке блискости односно удаљености између линија полусродника на основу анализе протеинских маркера, урађена је кластер анализа (графикон 1). На основу дендрограма кластер анализе, може се констатовати да се анализирани линије полусродника групишу у 3 хомогене групе. Прву чине индивидуе линије 1Б1, другу индивидуе линије 1Д1, док је трећа хомогена група највећа и чине је индивидуе линије 1Ц2 и 1Ц4. Овако груписане индивидуе исте линије полусродника у исте хомогене целине потврђују исправност примене протеинских маркера за поузданије упознавање генетичке дистанце, односно блискости, између анализираних материјала.

4. ЗАКЉУЧАК

Резултати обављених истраживања показују релативно високе вредности коефицијента сличности унутар самих линија, док су вредности коефицијента сличности између анализираних линија знатно мање, а степен дисперзије већи. Највећу сличности на основу протеинских маркера показују линије var. *semidihotomy* и *nana*, док линије var. *serbica* показују знатно мање коефицијенте сличности са линијама var. *semidihotomy* и var. *nana*. Добијени резултати показују да је спонтана фенотипска варијабилност међу анализираним варијететима оморике генетички детерминисана, што потврђују резултати кластер анализе који дате генотипове групишу по хомогеним групама, а које истовремено представљају линије полусродника.

Евидентирани мањи коефицијент сличности варијетета *serbica*, са другим анализираним варијететима, вероватно је последица уже генетске променљивости овог варијетета, тј. његове веће блискости предачким формама, док су друга два варијетета кроз специјацију врсте настали касније.

ЛИТЕРАТУРА

- Исајев В., Туцовић А., Матаруга М., Шијачић-Николић М. (1996): *Промењивост развоја 50 half-sib линија оморике (Picea omorika /Panč./Purkyne) у семенској плантажи на станишту Quercetum frainetto-ceris s.l.*, V конгрес еколога, 22-27. септембар, Београд
- Карп А., Кресович С., Бхат К.В., Ајад В.Г., Ходџкин Т. (1997): *Molecular tools in plant genetic resources conservation: a guide to the technologies*, IPGRI Technical Bulletin № 2, Rome (1-47)
- Константинов К., Младеновић-Дринић С. (2000): *Генетички маркери виших биљака*, Савремена биофизика, Веларга, Београд (157-211)
- Leammi U.K. (1970): *Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*, Nature 227
- Младеновић-Дринић С. (1995): *Молекуларни маркери у предвиђању хетеротичног ефекта код кукуруза (Zea mays L.)*, докторска дисертација у рукопису, Пољопривредни факултет, Нови Сад

Туцовић А., Исајев В. (1997): *Генеративна семенска плантажа оморице у Годовику, извођачки пројекат*, Београд

Mirjana Šijačić-Nikolić
Vasilije Isajev
Kosana Konstantinov
Snežana Mladenović-Drinić

POLYMORPHISM OF PROTEIN MARKERS IN SERBIAN SPRUCE HALF-SIB LINES

S u m m a r y

The analysis of protein markers was applied in the determination of the degree of genetic polymorphism of half-sib lines of Serbian spruce varieties: var. *semidihotomy*, var. *serbica* and var. *nana*, incorporated in the seedling seed orchard.

The analysis in the salts of soluble proteins of endosperms of 12 Serbian spruce genotypes was performed by separation - electrophoresis on the polyacrylamide gel using L e a m l i (1970) method.

The obtained electrophoregrams were the base for the calculation of the coefficient of similarity, by S h e e n (1972) formula, both between individuals within the lines and between the lines. The genetic distance of the analysed material was assessed by cluster analysis.

The results of the research show relatively high values of the coefficient of similarity within the lines, while the values of the coefficients of similarity between the analysed lines are significantly lower and the degree of dispersion is higher. Based on protein markers, the greatest similarity is observed for the lines var. *semidihotomy* and *nana*, while the lines var. *serbica* have considerably lower coefficients of similarity with the lines var. *semidihotomy* and var. *nana*.

The study results show that the spontaneous phenotypic variability between the analysed varieties of Serbian spruce is genetically determined.