



UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DEPARTMAN ZA BIOLOGIJU I EKOLOGIJU



Marina Tomičić

**Efekti oplemenjivanja na genetičku diferencijaciju i
varijabilnost genoma u elitnoj germplazmi soje
(*Glycine max* (L.) Merr.)**

- doktorska disertacija -

Novi Sad, 2015.

UNIVERZITET U NOVOM SADU
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Marina Tomičić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	dr Dragana Obreht Vidaković, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu dr Vuk Đorđević, naučni saradnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu
Naslov rada: NR	Efekti oplemenjivanja na genetičku diferencijaciju i varijabilnost genoma u elitnoj germplazmi soje (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.)
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik
Jezik izvoda: JI	srpski/engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2015.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Departman za biologiju i ekologiju, PMF, Trg Dositeja Obradovića 2
Fizički opis rada: FO	broj poglavlja 9; stranica 129; slika 27; tabela 16; referenci 209; priloga 1
Naučna oblast: NO	Biologija
Naučna disciplina: ND	Genetika

Predmetna odrednica, ključne reči: PO	<i>Glycine max</i> , <i>hitchhiking</i> mapiranje, mikrosateliti, selekcija, adaptacija, oplemenjivanje
UDK	
Čuva se: ČU	Biblioteka Departmana za biologiju i ekologiju, PMF, Novi Sad
Važna napomena: VN	nema
Izvod: IZ	<p>Identifikacija genomskih regiona na koje je delovala selekcija tokom stvaranja elitnih sorti soje (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.) može ukazati na pozicije gena koji determinišu važna agronomska svojstva ili su odgovorni za adaptabilnost. U radu su sagledani efekti oplemenjivanja u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope koristeći pristup “<i>hitchhiking</i>” mapiranja i analizu pedigrea. U ovu svrhu su primenjeni molekularni markeri, mikrosateliti i principi populacione genetike, koristeći više različitih pristupa za identifikaciju selektivno značajnih lokusa. Analiza je obuhvatila populacije soje koje su se sastojale od predačkih genotipova i elitnih genotipova koji su nastali u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Analizom pedigrea je potvrđena uska genetička osnova sorti soje elitne populacije. Kao posledica dugogodišnjeg oplemenjivanja, svi analizirani parametri su ukazali na statistički značajno smanjenje genetičkog diverziteta elitne populacije u odnosu na predačku. Usled specifične strukture populacija soje, koja je u velikoj meri bila pod uticajem pedigrea elitnih genotipova, uočen je nizak nivo genetičke diferencijacije među ispitivanim populacijama. Primenom najmanje dva različita pristupa identifikovano je devet mikrosatelitskih lokusa koji su ukazivali na regione genoma na koje je delovala selekcija, a koji su bili uključeni u proces adaptacija u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. U elitnoj populaciji je potvrđeno povećanje stope gametskog disekvilibriruma, najverovatnije kao posledica delovanja selekcije. „<i>Bottleneck</i>” test je ukazao na značajno smanjenje diverziteta samo kod lokusa na koje je delovala selekcija u elitnoj populaciji, što najverovatnije nije uzrokovano demografskim faktorima, nego takođe predstavlja posledicu delovanja selekcije. Analizom kolokacije poznatih QTL regiona i identifikovanih, selektivno značajnih genomskih regiona, uočeno je ukupno 264 QTL-ova, od kojih su najzastupljeniji bili lokusi koji su determinisali svojstva u vezi sa reproduktivnim razvojem biljke. <i>In silico</i> analizom je utvrđeno da su lokusi na koje je delovala selekcija, determinisali agronomski značajna svojstva koja su na direktan ili indirektan način uticala na povećanje prinosa elitnih sorti soje u specifičnim agroklimatskim uslovima gajenja. Rezultati istraživanja su takođe ukazali da E1 gen, koji ima važnu ulogu u regulisanju vremena cvetanja i sazrevanja kod soje, ili region u okolini ovog gena, verovatno ima glavni uticaj na adaptaciju na agroklimatske uslove područja centralne i istočne Evrope. Takođe se pretpostavlja da je najveći broj selektivno značajnih gena imao regulatornu ulogu, delujući kao transkripcioni faktori, kao i ulogu u procesima transporta. Identifikovani selektivno značajni genomski regioni u okviru oplemenjivačkog programa mogu imati praktičnu primenu u povećanju efikasnosti oplemenjivanja u narednom periodu.</p>
Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	18.07.2014.

Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<p>-predsednik: dr Mihajla Đan, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>-član: dr Dragana Obreht Vidaković, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>-član: dr Vuk Đorđević, naučni saradnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu</p> <p>-član: dr Jelena Purać, docent, Prirodno- matematički fakultet u Novom Sadu</p> <p>-član: dr Jegor Miladinović, naučni savetnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu</p>

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF SCIENCES
KEY WORD DOCUMENTATION**

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD Thesis
Author: AU	Marina Tomičić
Mentor: MN	dr Dragana Obreht Vidaković, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad dr Vuk Đorđević, Research Associate, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad
Title: TI	Effects of breeding on genetic differentiation and genome variability in the elite soybean germplasm (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.)
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian/English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Department of Biology and Ecology, Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovića 2, 21 000 Novi Sad
Physical description: PD	chapters 9, pages 129, references 209, figures 27, tables 16, supplement 1
Scientific field SF	Biology
Scientific discipline SD	Genetics

Subject, Key words SKW	<i>Glycine max</i> , <i>hitchhiking</i> mapping, microsatellites, selection, adaptation, breeding
UC	
Holding data: HD	Department of Biology and Ecology, library, Faculty of Sciences, Novi Sad
Note: N	No
Abstract: AB	<p>The identification of genomic regions affected by selection during breeding of soybean (<i>Glycine max</i> (L.) Merr.) may indicate the positions of important agronomic traits genes or genes underlying adaptation to a specific target environment. This study investigated the effects of breeding in Central-East European environments by a <i>hitchhiking</i> mapping approach and pedigree analysis. Population genetic principles were applied to microsatellite markers using multiple outlier detection tests. The analysed populations comprised ancestral genotypes and elite varieties, developed at the Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad. The pedigree analysis confirmed narrow genetic base of elite genotypes. As a result of long-term breeding, all analysed parameters showed significant reduction in genetic diversity in the elite population, compared to the ancestral. Specific population structure of analysed varieties, which has been largely influenced by the pedigree, probably caused a low level of genetic differentiation between the populations. Using at least two approaches, nine markers were considered as strong positive selection candidates, indicating regions involved in the adaptation to Central-East Europe environments. Also, an excess of linkage disequilibrium was confirmed in the elite population, probably caused by selection. <i>Bottleneck</i> tests provided evidence of population bottlenecks only for the candidate positive selection loci in the elite population, suggesting that selection might shaped the pattern of genetic diversity in these regions. The co-localisation analysis of the candidate positive selection loci and previously mapped quantitative trait loci (QTLs), identified in total 264 QTLs in selectively important genomic regions. The highest number of identified QTLs had impact on the reproductive period. <i>In silico</i> analysis revealed a high level of agreement between the identified QTLs and the traits expected to be under selection during soybean breeding, indicating that selection was mostly directed towards increasing the yield of elite varieties in a specific environmental conditions. Furthermore, E1 gene that controls flowering time and maturity in soybean, or its surrounding region, seems to be a major contributor for adaptation to environmental conditions of Central-East Europe. It is assumed that most of the selectively important genes had regulatory role, acting as transcription factors, as well as a role in the processes of transport. The identified selectively important genomic regions in a specific breeding program could have practical importance for future breeding and yield improvement.</p>
Accepted on Scientific Board on: AS	18.07.2014.
Defended: DE	

Thesis Defend Board: DB	-president: dr Mihajla Đan, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad -member: dr Dragana Obreht Vidaković, Associate Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad -member: dr Vuk Đorđević, Research Associate, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad -member: dr Jelena Purać, Assistant Professor, Faculty of Sciences, Novi Sad -member: dr Jegor Miladinović, Principal Research Fellow, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad
----------------------------	---

Mileni i Radivoju

SADRŽAJ

Lista ilustracija.....	iii
Lista tabela.....	iv
Zahvalnica.....	v
Lista skraćenica.....	vi
1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Poreklo, domestikacija i oplemenjivanje soje.....	3
2.1.1. Uticaj domestikacije i oplemenjivanja na genetičku varijabilnost soje.....	6
2.2. Identifikacija lokusa koji determinišu agronomski značajna svojstva.....	7
2.2.1. "Hitchhiking" mapiranje.....	10
2.2.1.1. Pristup "hitchhiking" mapiranja koji detektuje smanjenje genetičkog diverziteta.....	14
2.2.1.2. Pristup "hitchhiking" mapiranja koji detektuje povećanje međupopulacione diferencijacije.....	14
2.2.1.3. Primena "hitchhiking" mapiranja.....	16
2.2.1.4. Prednosti i nedostaci "hitchhiking" mapiranja.....	18
3. CILJ ISTRAŽIVANJA.....	20
4. RADNA HIPOTEZA.....	22
5. MATERIJAL I METODE.....	23
5.1. Formiranje mapirajućih populacija.....	23
5.2. Metode.....	26
5.2.1. Izolacija genomske DNK.....	26
5.2.2. Određivanje koncentracije i proveravanje kvaliteta izolovane DNK.....	27
5.2.3. Mikrosatelitski markeri i lančana reakcija polimeraze (PCR).....	27
5.2.4. Analiza mikrosatelitskih fragmenata.....	28
5.3. Statistička obrada podataka.....	29
5.3.1. Analiza genetičke varijabilnosti populacija soje.....	29
5.3.2. Genetička struktura populacija soje.....	31
5.3.3. Genetička diferencijacija populacija soje.....	32
5.3.4. Identifikacija lokusa na koje je delovala selekcija.....	34
5.3.4.1. Empirijski pristup koji se zasniva na smanjenju diverziteta mikrosatelitskih lokusa.....	34
5.3.4.2. Empirijski pristup koji se zasniva na povećanju populacione diferencijacije.....	35
5.3.4.3. Pristupi koji se zasnivaju na povećanju populacione diferencijacije i korišćenju demografskih modela.....	35
5.3.5. Analiza genetičkog uskog grla ("Bottleneck analiza").....	37
5.3.6. Gametski disekvilibrjum.....	38
5.3.7. Karakterizacija identifikovanih selektivno značajnih kandidat lokusa.....	38
6. REZULTATI.....	40
6.1. Genetička varijabilnost populacija soje.....	40
6.2. Genetička struktura populacija soje.....	49
6.3. Genetička diferencijacija populacija soje.....	52
6.3.1. Genetička diferencijacija populacija na osnovu <i>Fst</i> parametra.....	52

6.3.2. Analiza molekularne varijanse (AMOVA).....	55
6.3.3. Analiza glavnih koordinata (PCoA).....	55
6.4. Identifikacija lokusa na koje je delovala selekcija.....	58
6.4.1. Populacione razlike u genetičkom diverzitetu i diferencijaciji na osnovu različitih grupa lokusa.....	72
6.5. Analiza genetičkog uskog grla u populacijama soje.....	75
6.6. Gametski disekvilibrijum.....	76
6.7. Karakterizacija identifikovanih selektivno značajnih kandidat lokusa.....	78
6.7.1. Analiza kolokacije poznatih QTL regiona i selektivno značajnih kandidat lokusa.....	78
6.7.2. Karakterizacija selektivno značajnih kandidat lokusa na nivou gena.....	84
7. DISKUSIJA.....	89
7.1. Genetička varijabilnost, struktura i diferencijacija populacija soje.....	90
7.2. Identifikacija lokusa na koje je delovala selekcija.....	94
7.3. Interpretacija selektivno značajnih kandidat lokusa.....	104
8. ZAKLJUČAK.....	114
9. LITERATURA.....	117
10. PRILOG.....	129

LISTA ILUSTRACIJA

1. Delovanje selekcije na genetičku varijabilnost blisko vezanih lokusa prilikom: a) „hard sweep“; b) „soft sweep“; c) „multiple partial sweeps“	11
2. Prosečan udeo doprinosa predačkih genotipova (%) pedigreima elitne populacije.....	40
3. Elektroforegram mikrosatelita Satt582 i Satt343 za genotip Šapčanka iz elitne populacije.....	41
4. Histogram broja lokusa sa jedinstvenim alelima (Np) u genotipovima predačke i elitne populacije soje.....	46
5. Vrednosti očekivane heterozigotnosti (He) po lokusima u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje.....	48
6. Određivanje optimalne K vrednosti prema $L(K)$ vrednostima primenjen na analiziranim genotipovima soje, metod po Pritchard i sar. (2000).....	49
7. Određivanje najverovatnijeg broja genetičkih klastera primenom ΔK metode (Evano i sar., 2005).....	50
8. Grafički prikaz genetičke strukture predačke i elitne populacije soje.....	50
9. Zavisnost koeficijenta pripadnosti predačkih genotipova određenoj grupi (Q) i prosečnog udela predačkih genotipova u pedigreima elitnih sorti (%).....	51
10. Distribucija Fst vrednosti između predačke i elitne populacije soje.....	54
11. Analiza glavnih koordinata (PCoA) genotipova predačke i elitne populacije soje na osnovu a) prve i druge i b) prve i treće koordinatne ose.....	56
12. Testiranje distribucije nestandardizovanih a) $\ln RV$ i b) $\ln RH$ vrednosti primenom Kolmogorov-Smirnov testa.....	59
13. Standardizovane $\ln RH$ i $\ln RV$ vrednosti.....	60
14. Prikaz odnosa frekvencija alela između predačke (P) i elitne (E) populacije pojedinih mikrosatelitskih lokusa.....	62
15. Vrednosti indeksa fiksacije po analiziranim lokusima i hromozomima.....	63
16. Distribucija vrednosti indeksa fiksacije (Fst) i očekivane heterozigotnosti (He) lokusa na osnovu kojih su identifikovani lokusi na koje je delovala selekcija koristeći ostrvski model migracija u programu Lositan.....	67
17. Detekcija lokusa na koje je delovala selekcija upotrebom: a) ostrvskog i b) hijerarhijskog ostrvskog modela migracija u programu Arlequin.....	68
18. Identifikovani kandidat lokusi za delovanje selekcije na osnovu svih primenjenih pristupa.....	69
19. Ukupan broj favorizovanih alela kod genotipova a) predačke i b) elitne populacije raspoređenim prema grupama zrenja.....	71
20. Analiza molekularne varijanse za različite skupove lokusa: a) svi lokusi; b) neutralni lokusi; c) pozitivni lokusi	73
21. Grafički prikaz genetičke strukture predačke i elitne populacije soje na osnovu skupa neutralnih mikrosatelitskih lokusa ($K=2$).....	75
22. Kvadratni koeficijent korelacije (r^2) između lokusa sa istog hromozoma u predačkoj i elitnoj populaciji soje u zavisnosti od udaljenosti lokusa (R^2 -koeficijent determinacije).....	77
23. Distribucija QTL-ova koji su identifikovani „hitchhiking“ mapiranjem kod genotipova soje adaptiranih na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope.....	79
24. Distribucija gena na osnovu molekularne funkcije koju obavljaju	86

25. Raspodela genskih modela na osnovu dela ćelija u kojem obavljaju aktivnost.....	86
26. Zastupljenost genskih transkripata u različitim delovima biljke.....	87
27. Prisutnost produkata ekspresija gena koji se nalaze u selektivno značajnim regionima genoma, u različitim organima ili fazama razvoja.....	88

LISTA TABELA

1. Genotipovi elitne populacije soje.....	24
2. Genotipovi predačke populacije soje.....	25
3. Parametri genetičke varijabilnosti SSR lokusa u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje.....	43
4. Prosečne vrednosti parametara genetičkog diverziteta u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje.....	48
5. Vrednosti indeksa fiksacije (F_{st}) za pojedinačne lokuse između analiziranih populacija soje.....	52
6. Rezultati analize AMOVA u predačkoj i elitnoj populaciji soje.....	55
7. Analiza distribucije nestandardizovanih $\ln RV$ i $\ln RH$ vrednosti.....	58
8. Vrednosti populaciono-genetičkih parametara dobijeni primenom simulacija, korišćenjem ostrvskog modela migracija, u programu Lositan	65
9. Populaciono-genetički parametri u analiziranim populacijama, za neutralne i pozitivne kandidat lokuse.....	72
10. Rezultati analize molekularne varijanse (AMOVA) za pozitivne kandidat lokuse u analiziranim populacijama soje.....	74
11. Rezultati analize molekularne varijanse (AMOVA) za neutralne kandidat lokuse u analiziranim populacijama soje.....	74
12. Analiza genetičkog uskog grla za različite skupove analiziranih SSR lokusa primenom TPM modela mutacija.....	76
13. Broj parova lokusa sa statistički značajnim gametskim disekvilibrijumom i njihov procentualni udeo (vrednosti u zagradama) u analiziranim populacijama soje	76
14. Lokusi kvantitativnih osobina koji su bili u direktnoj vezi sa kandidat lokusima za pozitivnu selekciju.....	81
15. Identifikovani QTL-ovi i geni u selektivno značajnim regionima hromozoma.....	84
16. GO domeni za biološke procese u selektivno značajnim regionima genoma.....	85

Zahvalnica

Istraživanje obuhvaćeno ovom doktorskom disertacijom realizovano je u okviru projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (TR 31022), u Odeljenju za biotehnologiju, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu.

Svom mentoru, dr Vuku Đorđeviću, naučnom saradniku iz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, želim da izrazim neizmernu zahvalnost. Njegov stalni podsticaj, nesebična podrška i ukazano poverenje bili su od neprocenjive pomoći. Ideje, znanje i iskustvo koje je sa mnom delio uvek su predstavljali pravu inspiraciju.

Zadovoljstvo mi je da izrazim svoju zahvalnost mentoru dr Dragani Obreht Vidaković, sa Prirodno-matematičkog fakulteta iz Novog Sada, za svesrdnu pomoć, koja je značajnim sugestijama i komentarima pomogla izradu ove doktorske disertacije.

Hvala dr Jegoru Miladinoviću na pruženoj pažnji, korisnim savetima i pomoći tokom rada.

Hvala dr Mihajli Đan i dr Jeleni Purać na sugestijama, komentarima i uputstvima koji su doprineli poboljšanju kvaliteta disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem dr Ankici Kondić-Špiki, rukovodiocu Odeljenja za biotehnologiju, na pruženoj podršci u toku rada.

Dragim kolegicama Ljilji, Sanji i Dragani se zahvaljujem na pomoći, znanju i iskustvu koje sa mnom nesebično dele. Uz veselo društvo i prijateljsku podršku tokom zajedničkog rada, zajedno sa „velikom“ Ljiljom i Suzanom, sve prepreke su se činile manje velike.

Dragim prijateljima se zahvaljujem na razumevanju, radostima i lepima trenucima.

Hvala Veljku za svu pažnju i ljubav koju mi nesebično pruža.

Najveću zahvalnost upućujem roditeljima, bratu Srđanu i snaji Dragani, zbog čije bezrezervne ljubavi, podrške i razumevanja nikada nisam odustajala. Ovi redovi predstavljaju samo malu nadoknadu za sve što su činili i čine za mene.

M.T.

LISTA SKRAĆENICA

AMOVA - analiza molekularne varijanse

bp – bazni par

cM – centimorgan

CTAB - heksadecil-trimetil-amonijum-bromid

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

dNTP – deoksinukleotid trifosfat

E – elitna populacija

EDTA – etilen diamin tetra sirćetna kiselina

Fst - indeks fiksacije

GO - eng. *gene ontology*, domeni ontologije gena

He – očekivana heterozigotnost

MAS – marker asistirana selekcija

MW test - Mann-Whitney test

Na – broj alela po lokusu

NAM - eng. *nested association mapping*

Ne - efektivan broj alela

Np - eng. *private alleles*, broj jedinstvenih alela

P - predačka populacija

PCoA - eng. *Principal Coordinate Analysis*, analiza glavnih koordinata

PCR – eng. *polymerase chain reaction*, lančana reakcija polimeraze

PIC - eng. *Polymorphism Information Content*, indeks polimorfizma

QTL - eng. *quantitative trait loci*, lokusi za kvantitativne osobine

RIL – eng. *recombinant inbred line*, rekombinantna inbred linija

rpm – eng. *rotation per minute*, broj obrtaja u minuti

Rs – eng. „*allelic richness*“

SNP - eng. *single nucleotide polymorphism*, polimorfizam pojedinačnih nukleotida

SSR - eng. *simple sequence repeat*, mikrosateliti – kratki ponovci DNK sekvence

TE pufer - Tris-EDTA pufer

Tris - tris(hidroksimetil)aminometan

1. UVOD

Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) je široko rasprostranjena industrijska biljka, koja zauzima značajno mesto u ratarskoj proizvodnji. Pripada porodici *Leguminosae*, subfamiliji *Papilionoideae*, plemenu *Phaseoleae*, rodu *Glycine* Willd., podrodu *Soja* (Moench). Genom ove vrste ima veličinu približno 1,1 Gb (Schmutz i sar., 2010), a do njegove duplikacije je došlo pre oko 59, a potom i pre 13 miliona godina (Schmutz i sar., 2010), te je soja diploidni tetraploid ($2n=40$). Kod ove jednogodišnje biljke se može uočiti izuzetno visok procenat samooplodnje, dok je procenat stranooplodnje obično manji od 1%. Važna karakteristika mahunarki, a time i soje, je formiranje korenskih kvržica bogatih azotofiksirajućim bakterijama (*Bradyrhizobium japonicum*), koje omogućavaju usvajanje atmosferskog azota.

Soja je biljka kratkog dana, sa dužinom vegetacionog perioda od 80 do 170 dana kod najvećeg broja sorti. Klasifikacija genotipova soje se može izvesti prema dužini vegetacionog perioda i reakciji na fotoperiod, koja određuje kada će biljka cvetati, odnosno kada će preći iz vegetativne u reproduktivnu fazu. Ovo svojstvo uslovljava adaptaciju sorti prema geografskom području. Postoji ukupno 13 ovakvih kategorija, odnosno grupa zrenja, krećući se od 000 u najsevernijim područjima, do grupe zrenja X u blizini ekvatora. Za proizvodnju u našim agroklimatskim uslovima značajne su sorte od 000 do III grupe.

Glavni svetski proizvođači soje su Sjedinjene Američke Države, Brazil, Argentina i Kina (Faostat, 2015). Do povećanja površina na kojima se gaji, a koje su i dalje u stalnom porastu, došlo je u poslednjih šezdeset godina, što je prvenstveno uzrokovano specifičnim kvalitativnim sastavom semena, koje je bogato proteinima (40%) i uljem (20%). Kako bi se zadovoljile sve veće potrebe za sojom, glavni ciljevi tokom oplemenjivanja su usmereni ka stvaranju sorti koje su adaptirane na specifične agroklimatske uslove gajenja, sa stabilnim i visokim prinosom.

Tokom procesa oplemenjivanja biljaka, dugotrajnim delovanjem fenotipske selekcije, indirektno dolazi do favorizovanja alela koji determinišu agronomski značajna svojstva. U svim okolnim regionima gena, koji su selektivno neutralni, ali se nalaze u fizičkoj blizini regiona koji su pod dejstvom selekcije, takođe dolazi do povećanja frekvencije ili fiksacije određenih sekvenci, a ova pojava je poznata kao genetičko stopiranje (eng. *genetic hitchhiking*). Populaciono-genetički pristup koji za identifikaciju i lokalizovanje regiona

genoma koje je favorizovala selekcija tokom oplemenjivanja, koristi selektivno neutralne DNK sekvence, naziva se *“hitchhiking”* mapiranje. Na ovaj način identifikovani, funkcionalno značajni, genomski regioni na koje je delovala selekcija u okviru određenog oplemenjivačkog programa i u specifičnim agroklimatskim uslovima, mogu ukazati na pozicije major gena ili poligene lokuse koji determinišu važna agronomska svojstva ili su odgovorni za adaptabilnost.

Intenzivnije oplemenjivanje soje u Insitututu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu je počelo sredinom sedamdesetih godina prošlog veka, pri čemu je najveća pažnja poklanjana povećanju i stabilnosti prinosa, odnosno stvaranju sorti koje su adaptabilne na različite agroklimatske uslove gajenja. Prinos, kao i većina agronomski značajnih osobina soje su kvantitativna svojstva, kontrolisana većim brojem gena. Visok stepen interakcije koji postoji između genetičkih i faktora spoljašnje sredine kod ovih lokusa, dovode do smanjenja efikasnosti fenotipske selekcije prilikom oplemenjivanja soje. Usled toga, determinacija i karakterizacija alela koji su favorizovani selekcijom u specifičnim agroklimatskim uslovima, bi mogle da imaju praktičan značaj za povećanje efikasnosti oplemenjivanja, a sa ciljem stvaranja novih sorti poboljšanog genetičkog potencijala za prinos. Na taj način, saznanja dobijena populaciono-genetičkim pristupima bi mogla naći uspešnu praktičnu primenu u programima selekcije, koji će biti usaglašeni sa promenama na globalnom nivou, kako savremenim trendovima u proizvodnji soje, tako i promenama klimatskih faktora.

2. PREGLED LITERATURE

Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) se svrstava u red vodećih ratarskih useva u svetu, a njen značaj proizlazi iz specifičnog hemijskog sastava semena, koga čini visok sadržaj proteina (40%) i ulja (20%), ali i sposobnosti biološke azotofiksacije, koja može povoljno uticati na plodnost zemljišta. Kao jedan od glavnih izvora biljnih proteina i ulja za ishranu ljudi i životinja i kao važan izvor ulja za proizvodnju biodizela, ova biljna vrsta ima izuzetno veliki ekonomski značaj. Soja se danas koristi za spravljanje brojnih proizvoda za ljudsku i životinjsku ishranu, kao sirovina za industrijsku preradu, ali i u različite medicinske i farmaceutske svrhe (Wilson, 2008; Deshmukh i sar., 2014). Sve navedeno je uticalo na povećanje zahteva tržišta za sojom, što je usmerilo oplemenjivanje ka stvaranju sorti dobre adaptabilnosti, stabilnog i visokog prinosa. Od sredine XX veka svetska proizvodnja soje beleži stalan rast, a od 2010. godine površine zasejane sojom premašuju 100 miliona hektara (Faostat, 2015).

Na našim prostorima je ova biljna vrsta poznata od XIX veka, a značajniji udeo u gajenju i preradi u Srbiji dobila je tek sedamdesetih godina prošlog veka (Hrustić i Miladinović, 2011). Prema statističkim podacima za 2013. godinu, Srbija je među vodećim proizvođačima soje u Evropi. U pomenutoj godini na ovim prostorima je bilo zasejano oko 160.000 ha soje, a prosečan prinos od 2010. do 2013. godine je iznosio oko 2,5 t/ha (Faostat, 2015).

2.1. POREKLO, DOMESTIKACIJA I OPLEMENJIVANJE SOJE

Soja je domestikovana pre oko 5.000 godina od divljeg pretka (*Glycine soja* Seib. et Zucc.), sa centrom domestikacije u severoistočnoj Kini, kada su nastale brojne lokalne populacije adaptirane na različite klimatske uslove (Carter i sar., 2004; Qiu i sar., 2011). Do prvog veka nove ere lokalne populacije su rasprostranjene širom Kine i Koreje. Međutim, tek tokom XV i XVI veka, soja se raširila u ostatku azijskog kontinenta, što je najverovatnije bilo uzrokovano razvojem morskih i kopnenih trgovačkih puteva (Hymowitz, 2004). Ova biljna vrsta je 1765. godine introdukovana iz Kine u Severnu Ameriku (Hymowitz, 2004), ali

njeno gajenje u širim razmerama počinje znatno kasnije. Nakon 100 godina se raširila u Sjedinjenim Američkim Državama (SAD), gde je uglavnom uzgajana kao krmno bilje. Nakon otkrića američkog hemičara Dž. V. Karvera, početkom XX veka, da seme soje predstavlja značajan izvor ulja i proteina, soja je počela da se uzgaja radi iskorišćavanja specifičnog sastava zrna (Wilson, 2008), što je istovremeno izazvalo potrebu za stvaranjem genotipova većeg prinosa. Gajenje soje u Evropi je započelo u Francuskoj 1840. godine, odakle se proširila u Austriju i druge zemlje ovog kontinenta.

Moderno oplemenjivanje soje je započelo na prostorima Severne Amerike, pre više od sto godina, sa malim početnim brojem azijskih osnivačkih genotipova, koji su najvećim delom obuhvatali lokalne populacije, kao i genotipove nastale njihovim ukrštanjem. Tokom dvadesetih godina prošlog veka, Ministarstvo poljoprivrede SAD je organizovalo ekspedicije u Aziji, sa ciljem sakupljanja lokalnih populacija (Hymowitz, 2004), koje su potom korišćene prilikom stvaranja novih sorti. Programi oplemenjivanja soje u Severnoj i Južnoj Americi su uspostavljeni do početka 1930-tih (Bernard i sar., 1988), što je, počevši od 1947. godine, dovelo do nastanka novih sorti. Nove sorte su se proširile u ostatak sveta, gde su prošle kroz procese introdukcije, hibridizacije i selekcije, sa ciljem stvaranja elitnih, visoko-prinosnih sorti, poboljšanog kvalitativnog sastava semena i adaptiranih na specifične agroklimatske uslove gajenja.

Elitne sorte soje predstavljaju genetički superiorno potomstvo za agronomski važne osobine, koje nastaju procesom oplemenjivanja. Gajene sorte koje se prilikom stvaranja elitnih koriste kao roditeljske se označavaju kao predačke (ancestralne). Tok oplemenjivanja i nastanka elitnih sorti se može pratiti na osnovu pedigrea, čijom strukturom se definišu veze između elitne i svih predačkih sorti koje učestvuju u njenom stvaranju, obuhvatajući jednu ili više generacija (Shoemaker i sar., 1992).

Da bi se željena agronomska svojstva unapredila neophodno je najpre stvoriti veliku populaciju rekombinantnih inbred linija, značajne fenotipske varijabilnosti. U skladu sa pozitivnom korelacijom između fenotipske varijabilnosti i genetičkog diverziteta (Moose i Mumm, 2008), stvaranje ovakve populacije je omogućeno genetičkom varijabilnošću roditelja, što ukazuje na veliki značaj očuvanja diverziteta u cilju nastavka genetičkog poboljšanja željenih osobina (Grainger i Rajcan, 2014). Izbor roditelja umnogome određuje dalji uspeh oplemenjivanja, a obavlja se u zavisnosti od porekla linija i raspoloživih

resurasa, kao i osobina koje se žele unaprediti. Smatra se da elitne roditeljske linije različitog porekla imaju najveću šansu da daju superiorno potomstvo (Burton, 1997; Miladinović i sar., 2008). Korišćenje elitnih genotipova kao roditelja, odnosno ukrštanje „*elite by elite*“, se koristi kako bi se osiguralo da će se blokovi vezanih gena koji determinišu poželjne osobine preneti i u nove elitne sorte (Grainger i Rajcan, 2014). Nakon ukrštanja roditeljskih genotipova i stvaranja rekombinantne populacije, potomstvo se dovodi u homozigotno stanje a zatim se obavlja izbor superiornih linija. Kod konvencionalnog oplemenjivanja, linije nosioci poželjnih alela se detektuju koristeći fenotipske karakteristike. Delovanjem selekcije na određene fenotipske osobine, indirektno se favorizuju i fiksiraju aleli koji determinišu agronomski značajna svojstva, što dovodi i do promene genetičke strukture populacije (Yamasaki i sar., 2005). Tokom proteklog perioda selekcije i oplemenjivanja, u genomu gajenih sorti je došlo do brojnih promena koje su omogućile adaptaciju soje na različite geografske širine, povećanje prinosa, promenu hemijskog sastava semena, otpornost na abiotičke i biotičke faktore. Poznavanje genetičke i molekularne osnove agronomski značajnih osobina može imati direktnu primenu u oplemenjivanju, te je jedan od osnovnih ciljeva identifikacija odgovornih regiona genoma, odnosno mapiranje odgovarajućih gena ili lokusa za kvantitativne osobine (Ross-Ibarra i sar., 2007).

Intenzivije gajenje soje na prostorima Srbije je počelo sedamdesetih godina prošlog veka. Usled nedostatka domaćih sorti, tada su uglavnom introdukovane sorte sa prostora SAD, pri čemu je najveći broj pripadao I (prvoj) grupi zrenja. Međutim, s obzirom da su introdukovane sorte stvarane za drugačije uslove gajenja, adaptabilnost i stabilnost prinosa u našim uslovima nisu bile zadovoljavajuće, pri čemu je prinos imao veoma veliku varijabilnost između lokaliteta kao i tokom godina. Ovo je nametnulo potrebu za stvaranjem domaćih, visokoprinosa sortu soje, različite dužine vegetacije, koje su prilagođene agroklimatskim uslovima našeg područja. Pored toga, nove sorte morale su biti otporne i na poleganje, pucanje mahuna, kao i najznačajnije bolesti (Miladinović i sar., 2008). Sve navedeno je uticalo na početak oplemenjivanja soje u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Genetičku osnovu novosadskih sorti soje pretežno čine genotipovi severnoameričke germplazme, kao i manji broj sorti koje vode poreklo sa prostora Evrope (Miladinović i sar., 2008). U radu na oplemenjivanju soje u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu se koristi metod potomstva jednog zrna (eng. *single seed descent*)

(Miladinović i sar., 2013). Tokom primene ove metode u ranim generacijama, selekcija se obavlja najčešće samo odbacivanjem bolesnih biljaka, biljaka koje poležu ili imaju ispucale mahune. Najznačaniji deo selekcije se obavlja tek kada se postigne određeni nivo homozigotnosti u okviru genotipa, u kasnijim generacijama, F4 ili F5, u kojima je očuvana puna varijabilnost (Miladinović i sar., 2008).

U dosadašnjem radu na oplemenjivanju soje u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo najveća pažnja poklanjana je povećanju i stabilnosti prinosa, odnosno stvaranju sorti koje su adaptabilne na različite agroklimatske uslove gajenja (Miladinović i sar., 2006). Pored navedenog, program oplemenjivanja se takođe prilagođavao potrebama tržišta, pri čemu su uvažavani zahtevi proizvođača i prerađivačke industrije, koji su se uglavnom odnosili na povećanje sadržaja proteina i poboljšanje kvaliteta ulja (Miladinović i sar., 2008).

2.1.1. UTICAJ DOMESTIKACIJE I OPLEMENJIVANJA NA GENETIČKU

VARIJABILNOST SOJE

Tokom složene istorije domestikacije i oplemenjivanja, genom soje je prošao kroz više uskih grla koja su dovela do sužavanja njene genetičke osnove (Hyten i sar., 2006; Lam i sar., 2010). Najveće smanjenje genetičkog diverziteta je uočeno tokom domestikacije u Aziji, kada su od vrste *Glycine soja* nastale brojne lokalne populacije, a procenjuje se da se diverzitet nukleotida tada smanjio za 50% (Hyten i sar., 2006). Genetičko usko grlo kroz koje je prošla soja tokom domestikacije je potvrđeno analizom diverziteta različitih molekularnih markera, kao i genomskih sekvenci (Guo i sar., 2010; Li i sar., 2010; Kim i sar., 2012). Iako su osobine koje su favorizovane tokom domestikacije najčešće determinisane malim brojem gena i major lokusa za kvantitativne osobine, selekcija koja je delovala na njih je dovela do smanjenja genetičkog diverziteta na nivou celog genoma (Doebly i sar., 2006). Tada je kod divljeg pretka soje došlo do gubitka 81% retkih alela, dok su kod 60% gena uočene značajne promene frekvencija alela (Hyten i sar., 2006). Kao što je već napomenuto, smanjenje genetičkog diverziteta predstavlja potencijalnu opasnost za buduće povećanje prinosa, a takođe povećava i osetljivost prema novim bolestima (Hyten i sar., 2006). S obzirom da se hibridizacija između divlje i gajene soje odvija nesmetano, germplazma divlje soje se može koristiti kao izvor novih gena i alela u oplemenjivačkim programima (Lam i sar., 2010).

Drugo usko grlo, koje je uzrokovano introdukcijom relativno malog broja azijskih lokalnih populacija na prostore Severne Amerike, je dovelo do značajne erozije genetičkog diverziteta soje (Gizlice i sar., 1994). Ovo se zaključuje na osnovu činjenice da samo 16 genotipova čini 85% pedigrea severno-američkih sorti koje su priznate u periodu između 1947. i 1988. godine, a koje čine osnovu modernih elitnih sorti soje (Gizlice i sar., 1994; Carter i sar., 2004). Dugo se smatralo da je tokom modernog oplemenjivanja soje, nastankom elitnih sorti i njihovom kasnijom upotrebom kao roditelja za stvaranje novih sorti, takođe došlo do genetičkog uskog grla. Međutim, kada je nakon objavljivanja prve sekvence referentnog genoma soje - Williams 82 (Schmutz i sar., 2010), usledilo resekvenciranje genoma divljih predaka, lokalnih populacija i gajenih sorti (Kim i sar., 2010; Lam i sar., 2010; Li i sar., 2013), utvrđeno da je selekcija tokom modernog oplemenjivanja imala minimalni uticaj na diverzitet modernih sorti (Li i sar., 2013). Slično je uočeno i kod drugih gajenih biljnih vrsta, ukazujući da je oplemenjivanje u najmanjoj meri smanjilo ukupan genetički diverzitet (Xu i sar., 2011; Hufford i sar., 2012; Cavanagh i sar., 2013). Pretpostavlja se da je tokom modernog oplemenjivanja selekcija zapravo delovala na ograničen broj lokusa u genomu (Cavanagh i sar., 2013). Poznavanje genomskih promena koje predstavljaju rezultat delovanja selekcije tokom oplemenjivanja, u specifičnim agroklimatskim uslovima, može pomoći pri identifikaciji regiona koji determinišu važna agronomska svojstva ili su odgovorni za adaptabilnost, a što dalje može pozitivno da utiče na povećanje efikasnosti oplemenjivanja (Morrell i sar., 2011).

2.2. IDENTIFIKACIJA LOKUSA KOJI DETERMINIŠU AGRONOMSKI ZNAČAJNA SVOJSTVA

Agronomski značajna svojstva su najčešće kvantitativne osobine, determinisane većim brojem gena, na koje selekcija može delovati tokom oplemenjivanja. Uzimajući u obzir da su moderne sorte soje nastale uglavnom ukrštanjem visokoprinosa, elitnih genotipova, smatra se da je jedini konstantan kriterijum i najvažnije svojstvo na koje je delovala selekcija bio visok i stabilan prinos. Usled ovoga se može zaključiti da su tokom oplemenjivanja soje favorizovani aleli i alelne kombinacije koje utiču na povećanje prinosa u različitim agroklimatskim uslovima. Kao kvantitativno svojstvo, prinos se karakteriše veoma

složenom genetičkom osnovom, predstavljajući konačnu kulminaciju više različitih svojstava (snaga izbivanja klijanca, otpornost na različite abiotičke i biotičke faktore, efikasnost fotosinteze, sposobnost usvajanja nutrijenata iz zemljišta, sposobnost cvetanja, itd), pri čemu svaka pojedinačna komponenta može biti kontrolisana od strane većeg broja gena. Osim toga, QTL-ovi (eng. *quantitative trait loci*, lokusi za kvantitativne osobine) za prinos imaju nisku heritabilost, a svoj efekat ispoljavaju u zavisnosti od genetičkog okruženja, kao i uslova spoljašnje sredine. Ovo dovodi do smanjenja efikasnosti odabira superiornih genotipova samo na osnovu fenotipskih osobina, kakav je slučaj prilikom konvencionalnog oplemenjivanja soje (Sebastian i sar., 2010). Upotreba molekularnih markera povećava efikasnost i brzinu konvencionalnog oplemenjivanja, dovodeći do značajnog genetičkog poboljšanja željenih osobina (Sebastian i sar., 2010). Odabir genetički superiornog potomstva koji se zasniva na primeni molekularnih markera koji su u bliskoj vezi sa lokusima koji determinišu željena svojstva se naziva marker asistirana selekcija (MAS) (Pathan i Sleper, 2008). Detekcija gena odgovornih za agronomski značajna svojstava kao i identifikacija molekularnih markera koji su u vezi sa njima, predstavlja preduslov za uspešnu primenu MAS, koja će omogućiti brzu indirektnu selekciju genetički superiornog potomstva, u cilju stvaranja novih sorti sa poboljšanim genetičkim potencijalom za prinos (Varshney i sar., 2014). Za detekciju gena i utvrđivanje veza sa molekularnim markerima se koriste pristupi biparentalnog-QTL i asocijativnog mapiranja, koji teže ka povezivanju fenotipskih razlika sa varijabilnošću na molekularnom nivou.

Biparentalno-QTL mapiranje omogućava pozicioniranje i identifikaciju lokusa koji determinišu složene, poligene osobine (Lynch i Walsh, 1998). Mapiranje obuhvata fenotipsku karakterizaciju i genetičku analizu mapirajućih populacija, koje nastaju nakon početnog ukrštanja dva genetički divergentna roditelja i više ciklusa narednih ukrštanja. Usled relativno kratkog vremenskog perioda tokom kojeg se formiraju mapirajuće populacije, u ovim populacijama dolazi do malog broja rekombinacija što uzrokuje visoke vrednosti gametskog disekvilibriruma, a omogućava povezivanje fenotipskih i genetičkih razlika korišćenjem manjeg broja molekularnih markera. Usled visokih vrednosti gametskog disekvilibriruma, mapiranje ima ograničenu rezoluciju, te se lokusi lokalizuju u intervale dužine nekoliko cM, koji u zavisnosti od ispitivane vrste mogu sadržati nekoliko desetina pa i stotina gena kandidata (Ross-Ibarra i sar., 2007). Osim toga, rezultati biparentalnog-QTL

mapiranja često zavise od uticaja spoljašnje sredine (Paterson i sar., 1988), kao i od izbora roditeljskih linija, jer se prilikom ovog mapiranja analiziraju samo regioni genoma koji su divergentni u okviru mapirajuće populacije (Li i sar., 2006). Kod soje je ovaj pristup primenjen za identifikaciju različitih lokusa za kvantitativne osobine (Salas i sar., 2006; Githiri i sar., 2007; Guzman i sar., 2007). Većina QTL-ova za prinos koji su detektovani u mapirajućim populacijama soje i u specifičnim agroklimatskim uslovima (Reyna i Sneller, 2001; Guzman i sar., 2007), nisu verifikovani u drugom genetičkom okruženju i na drugim lokalitetima, što ograničava prenos ovih QTL-ova između različitih populacija.

Kod asocijativnog mapiranja (Weiss i Clark, 2002) detekcija QTL-ova se zasniva na fenotipskoj i genetičkoj karakterizaciji velikog broja divergentnih inbred linija koji imaju različitu genetičku osnovu a koji mogu pripadati kolekcijama germplazme ili prirodnim populacijama. Usled ovakvog odabira uzoraka, omogućena je analiza znatno većeg genetskog fonda i identifikacija većeg broja alela. Osim toga, gametski disekvilibrjum između lokusa se održava kroz mnoge generacije i zahvata znatno manje regione u odnosu na populacije biparentalnog-QTL mapiranja, što povećava rezoluciju asocijativnog mapiranja i dovodi do smanjenja intervala detektovanih lokusa. Ovo doprinosi da se fenotipska svojstva mogu mapirati i do nivoa jednog ili nekoliko gena (Palaisa i sar., 2004; Olsen i sar., 2006). U cilju povećanja preciznosti asocijativnog mapiranja potrebno je analizirati veliki broj pažljivo odabranih uzoraka, vodeći računa o genetičkoj struktuiranosti ispitivane populacije, uz korišćenje velikog broja markera (Ross-Ibarra i sar., 2007). Tokom poslednje decenije, brojna ispitivanja agronomski važnih svojstava kod soje su se zasnivala upravo na asocijativnom mapiranju (Hu i sar., 2014; Wen i sar., 2014).

Kako bi se kombinovale prednosti i uklonili nedostaci biparentalnog-QTL i asocijativnog mapiranja, kod kukuruza je za identifikovanje i disekciju genetičke strukture lokusa za kvantitativne osobine predloženo NAM (eng. *nested association mapping*) mapiranje (Buckler i sar., 2009). Za stvaranje NAM mapirajuće populacije korišćeno je 25 različitih roditeljskih linija kukuruza, pri čemu je svaka potom ukrštena sa zajedničkim roditeljem (elitna inbred linija) kako bi nastala F1 populacija. Zatim je, tokom šest generacija, obavljena samooplodnja, što je dovelo da nastanka ukupno 200 homozigotnih rekombinantnih inbred linija (RIL) po familiji, odnosno 5000 u celoj NAM populaciji. Ovakvim načinom formiranja mapirajuće populacije, NAM je obuhvatilo veliki deo genetičkog diverziteta kukuruza.

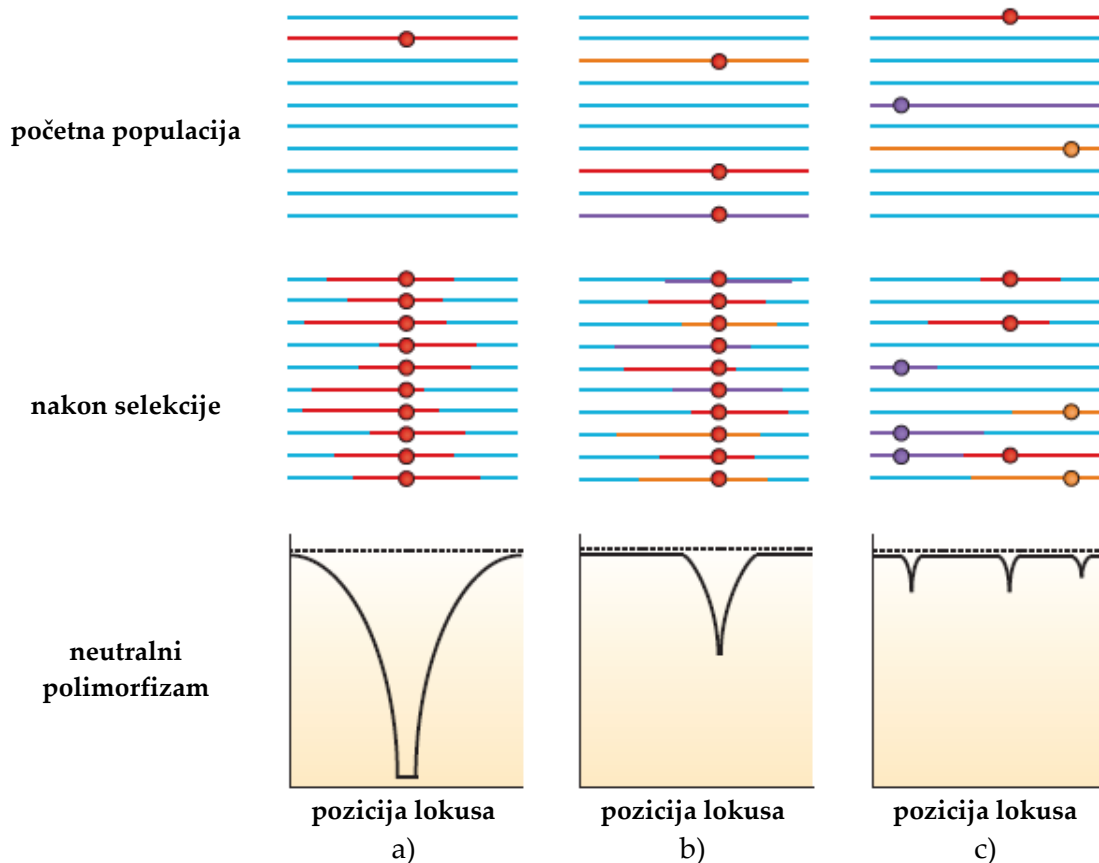
Takođe, može koristiti prednosti nedavnih rekombinacija, istovremeno čuvajući i nivo gametskog disekvilibriruma između lokusa koji je održavan tokom više generacija. Na taj način je, korišćenjem manjeg broja markera, omogućeno mapiranje visoke rezolucije, pri čemu genetička struktura populacije nema većeg uticaja na ishod mapiranja, čime su izbegnuti nedostaci biparentalnog-QTL i asocijativnog mapiranja.

2.2.1. „HITCHHIKING“ MAPIRANJE

Za precizno povezivanje fenotipa sa genom ili QTL-om pristupima biparentalnog-QTL i asocijativnog mapiranja, neophodan je visok nivo genetičkog i fenotipskog diverziteta u okviru ispitivanih populacija (Blackman i sar., 2011). Tokom procesa oplemenjivanja, koji predstavlja specifičan oblik pozitivne selekcije, dolazi do značajnog smanjenja varijabilnosti gena koji deteminišu agronomski značajne osobine (Yamasaki i sar., 2007). Proces pri kome u populaciji dolazi do povećanja učestalosti pa čak i do fiksacije alela koji donose veću adaptivnu vrednost nosiocima se naziva „*selective sweep*“ (Luikart i sar., 2003; Yamasaki i sar., 2007). Navedena pojava može predstavljati prepreku za uspešnu primenu biparentalnog-QTL ili asocijativnog mapiranja (Yamasaki i sar., 2005).

Specifične promene na nivou genoma, nastale kao rezultat delovanja selekcije, se usled odsustva ili smanjene stope rekombinacija mogu uočiti i na selektivno neutralnim regionima koji se nalaze u blizini gena na koje je delovala selekcija. Na taj način istovremeno dolazi i do povećanja frekvencije alela ili fiksacije u selektivno neutralnim delovima genoma. Pojava kada selekcija delujući na jedan lokus menja učestalost alela blisko vezanog, selektivno neutralnog lokusa je poznata kao **genetičko stopiranje** (eng. *genetic hitchhiking*) (Maynard-Smith i Haigh, 1974). Sa udaljenošću od mesta na koje deluje selekcija, opada jačina genetičkog stopiranja, odnosno dolazi do povećanja genetičkog diverziteta duž hromozoma. Širina selektivno neutralnog regiona koji je zahvaćen delovanjem selekcije zavisi od više faktora, uključujući intenzitet selekcije, stopu rekombinacija i vreme koje je prošlo nakon delovanja selekcije (Vigouroux i sar., 2002). Kada je nivo rekombinacija veoma nizak, genetičko stopiranje može zahvatiti veće delove genoma ili čak cele hromozome. Delovanjem selekcije na gen *Waxy* kod pirinča, došlo je do smanjenja varijabilnosti na regionu većem od 250 kbp i kod približno 40 gena oko mesta delovanja (Olsen i sar., 2006).

Prema klasičnom modelu, nakon nastanka potpuno novog alela procesom mutacije, ukoliko je u datim okolnostima ovaj alel selektivno poželjan, selekcija će ga favorizovati i dovesti do njegove fiksacije (eng. *hard sweep*). Selekcija tada najčešće deluje samo na haplotip u kome se mutacija javila, što uzrokuje drastično smanjenje varijabilnosti vezanih, selektivno neutralnih regiona (Slika 1a) (Pennings i Hermisson, 2006). Međutim, u određenim uslovima, kada dođe do promene selekcionog pritiska, u selektivnoj prednosti se mogu naći već postojeći aleli koji su prethodno imali neutralan ili čak blago štetni efekat (eng. *soft sweep*) (Slika 1b) (Przeworski i sar., 2005). U zavisnosti od porekla selektivno poželjnih alela, u ovom slučaju, do smanjenja heterozigotnosti može doći na užim ili širim regionima u odnosu na *hard sweep* (Burke, 2012).



Slika 1. Delovanje selekcije na genetičku varijabilnost blisko vezanih lokusa prilikom: a) „*hard sweep*“; b) „*soft sweep*“; c) „*multiple partial sweeps*“ (Cutter i Payseur, 2013)

Selekcija koja deluje na postojeću varijabilnost se može uočiti i kod kvantitativnih osobina (Strasburg i sar., 2012). Selekcija koja deluje na kvantitativne, poligene osobine, će imati slabiji intenzitet u odnosu na selekciju koja deluje na monogena svojstva. U slučaju

delovanja selekcije na poligene osobine tokom adaptacija, kod više lokusa se uočava pojava „*selective sweep*“, pri čemu ne mora obavezno doći do fiksacije bilo kojeg od navedenih lokusa (eng. *multiple partial sweeps*) (Slika 1c) (Cutter i Payseur, 2013). Fenomen genetičkog stopiranja je iskorišćen za identifikaciju i lokalizovanje regiona genoma na koje je delovala selekcija. Mapiranje putem genetičkog stopiranja, odnosno „*hitchhiking*“ mapiranje (Harr i sar., 2002; Schlötterer, 2003) se obavlja populaciono-genetičkim analizama, pomoću markera raspoređenih širom genoma, prilikom čega je moguće identifikovati specifične promene u delovima genoma koji nose gene na koje je delovala selekcija.

Ove specifične promene (eng. *signatures of selection*) se mogu javiti kao:

- (1) smanjenje diverziteta lokusa na koje je delovala selekcija;
- (2) promene spektra frekvencije alela selektivno značajnih lokusa;
- (3) povećanje stope gametskog disekvilibrjuma u selektivno značajnom regionu genoma;
- (4) povećanje diferencijacije među populacijama, u selektivno značajnim lokusima kao i vezanim regionima genoma (Nielsen, 2005).

Za razliku od biparentalnog-QTL i asocijativnog pristupa mapiranja, koji polaze od fenotipskih razlika, populaciono-genetički pristup „*hitchhiking*“ mapiranja omogućava ispitivanje genetičke osnove adaptacija direktno na nivou genoma, a uočene promene se zatim povezuju sa fenotipom koji determinišu („*bottom up*“ pristup) (Schlötterer, 2003; Storz, 2005; Ross-Ibarra i sar., 2007). Usled ovoga je pristup posebno pogodan u slučajevima kada selekcija deluje na biohemijske ili fiziološke procese, te fenotipske osobine nisu odmah uočljive ili nisu poznate (Storz, 2005; Walsh, 2008). „*Hitchhiking*“ mapiranje može pružiti informacije o kandidat genima koji se zatim mogu naknadno mapirati drugim pristupima (Yu i Buckler, 2006) ili se može koristiti za sužavanje regiona prethodno identifikovanih biparentalnim-QTL mapiranjem (Yamasaki i sar., 2007). Sve navedeno ukazuje da se različiti pristupi mapiranja ne moraju međusobno isključivati, već dopunjavati.

Efikasnost identifikacije gena na koje je delovala selekcija, primenom pristupa „*hitchhiking*“ mapiranja, između ostalog, zavisi od primenjenih statističkih testova, koji detektuju navedene promene na nivou genoma. Najveći broj analiza koristi pojavu smanjenja diverziteta u populaciji ili povećanje diferencijacije između populacija (Nielsen,

2005). Osim na osnovu "potpisa" selekcije koji detektuju, pristupi se takođe mogu podeliti na empirijske, koji se zasnivaju na distribuciji uočenih vrednosti statističkih parametara i na pristupe koji se zasnivaju na demografskim modelima, uzimajući u obzir pretpostavke o strukturi populacija. Prednost empirijskog pristupa je što pretpostavke o demografskim modelima i strukturi populacije ne mogu uticati na identifikaciju selektivno značajnih lokusa. Međutim, kritična tačka ovog pristupa može biti pravilan odabir odgovarajuće statističke granice za identifikovanje lokusa na koje je delovala selekcija (Storz, 2005).

Za izračunavanje genetičke varijabilnosti i nivoa populaciono-genetičke diferencijacije su naročito pogodni molekularni markeri, mikrosateliti, koji predstavljaju kratke (1–6 bp), tandemski ponovljene sekvence molekula DNK. Usled kodominantne prirode, velikog broja alela, visoke stope polimorfizma i nasumične distribucije na genetičkoj mapi, ovi markeri predstavljaju dobar izbor za primenu tokom „*hitchhiking*“ mapiranja (Moe i sar., 2010). Analize genetičkog diverziteta kod soje su ukazale na veliki polimorfizam ovih markera (Li i sar., 2008; Wang i sar., 2008). Uzevši u obzir da su mikrosateliti selektivno neutralni lokusi (Allendorf i sar., 2010), selekcija dovodi do promena u ovim regionima samo u slučaju kada su blisko vezani za gene na koje deluje selekcija (fenomen genetičkog stopiranja). Visoka stopa mutacija ovih molekularnih markera (10^{-6} do 10^{-2} po generaciji) omogućava dovoljan nivo varijabilnosti i kod blisko srodnih populacija, kakve su predačke i elitne populacije soje, na osnovu čega se povećava šansa za uočavanje promena u genomu tokom oplemenjivanja i delovanja selekcije (Teschke i sar., 2008). Ovo ujedno predstavlja i prednost u odnosu na polimorfizam pojedinačnih nukleotida (eng. *single nucleotide polymorphism*, SNP), markere koji imaju nisku stopu mutacija, usled čega su pogodniji za oslikavanje duže demografske istorije populacija (Zivkovic i Wiehe, 2008). Za detektovanje delovanja selekcije su veoma poželjni mikrosateliti koji su razvijeni iz transkripciono aktivnih regiona genoma (Bonin, 2008).

2.2.1.1. PRISTUP „HITCHHIKING“ MAPIRANJA KOJI DETEKUJE SMANJENJE GENETIČKOG DIVERZITETA

Za identifikaciju lokusa na koje je delovala selekcija se može primeniti empirijski pristup, koji na osnovu relativnog smanjenja varijabilnosti lokusa između dve populacije identifikuje one lokuse čiji je gubitak diverziteta veći od očekivanog, u uslovima kada selekcija ne deluje. U tu svrhu su razvijeni lnRV i lnRH testovi (Schlötterer, 2002; Schlötterer i Dieringer, 2005) koji su prilagođeni podacima dobijenim upotrebom mikrosatelitskih markera. Varijabilnost lokusa je, u zavisnosti od primenjenog testa, izražavana različitim parametrima, pri čemu lnRV test za ispitivanje promena genetičkog diverziteta mikrosatelitskih lokusa između dve populacije usled delovanja selekcije koristi varijansu broja ponovaka mikrosatelita (Schlötterer, 2002), dok lnRH test (Schlötterer i Dieringer, 2005) za opis varijabilnosti koristi očekivanu heterozigotnost (H_e). Identifikacija mikrosatelitskih lokusa koji se nalaze u regionima na koje je delovala selekcija se obavlja na osnovu odstupanja od normalne (Gausove) distribucije lnRV i lnRH vrednosti.

2.2.1.2. PRISTUP „HITCHHIKING“ MAPIRANJA KOJI DETEKUJE POVEĆANJE MEĐUPOPULACIONE DIFERENCIJACIJE

Kako je povećanje nivoa diferencijacije među populacijama jedna od promena na nivou genoma do koje dolazi usled delovanja pozitivne selekcije, indeks fiksacije (F_{st}) se, osim za kvantifikaciju genetičke diferenciranosti populacija, može koristiti i kao indikator delovanja selekcije (Beaumont i Nichols, 1996; Beaumont i Balding, 2004; Nielsen, 2005). Upotrebom ovog parametra, lokusi na koje je delovala selekcija se identifikuju na osnovu odstupanja od empirijske distribucije F_{st} vrednosti (Luikart i sar., 2003).

Pored empirijskog pristupa, za detekciju selektivno značajnih lokusa pomoću F_{st} parametra se takođe mogu koristiti i pristupi koji se zasnivaju na demografskim modelima. Na osnovu simulacija koje koriste pretpostavljeni modeli, stvara se teorijska (referentna) distribucija F_{st} vrednosti u zavisnosti od heterozigotnosti, za uslove kada selekcija ne deluje. Zatim se poređenjem referentne i empirijske distribucije F_{st} vrednosti, identifikuju lokusi koji odstupaju od neutralnih vrednosti, tzv. vanmarginalni lokusi, na koje je delovala

selekcija. Različiti demografski modeli pretpostavljaju različite populacione strukture i demografsku istoriju. Prednost korišćenja parametara populacione diferencijacije, a naročito *Fst* indeksa, je što imaju veliku moć detekcije selektivno značajnih lokusa primenom različitih demografskih scenarija (Nielsen, 2005). Moć detekcije testova koji se zasnivaju na diferencijaciji među populacijama se ne smanjuje tokom vremena, sve dok različiti aleli preovladavaju u populacijama koje se porede (Casa i sar., 2005; Storz, 2005). Za razliku od njih, *lnRH* i *lnRV* testovi imaju najveću moć detekcije neposredno nakon delovanja selekcije, kada je broj alela u populaciji značajno smanjen, dok sa povećanjem diverziteta datog lokusa tokom vremena moć detekcije na osnovu ovih testova se smanjuje (Casa i sar., 2005).

Brz razvoj tehnologije sekvenciranja i platformi za genotipizaciju su omogućili mnogo brže i jeftinije dobijanje velike količine genomskih podataka, što je doprinelo kvantifikaciji genetičkih varijacija širom genoma. Ovo je uslovalo pojavu relativno nove discipline, populacione genomike, koja kombinuje principe populacione genetike i funkcionalne genomike (Bonin, 2008). U najširem smislu, zasniva se na populaciono-genetičkoj analizi velikog broja lokusa širom genoma u cilju ispitivanja brojnih procesa, uključujući mutacije, genetički drift, protok gena i selekciju (Luikart i sar., 2003; Beaumont i Balding, 2004). Poznato je da intenzivna selekcija deluje na specifične lokuse, odnosno dovodi do smanjenja diverziteta samo na pojedinačnim mestima u genomu (Innan i Kim, 2004; Burke i sar., 2007). Smanjenje genetičkog diverziteta se, osim usled delovanja selekcije može javiti i kao posledica demografskih procesa, uključujući prolazak kroz genetičko usko grlo, širenje populacija, protok gena i genetički drift, koji za razliku od delovanja selekcije, uzrokuju smanjenje genetičkog diverziteta i povećanje stope gametskog disekvilibrjuma na nivou celog genoma (Pritchard i Przeworski, 2001). Pretpostavlja se da će usled toga genetički diverzitet selektivno neutralnih gena biti smanjen samo tokom demografskih procesa, i da će ovi geni nakon delovanja selekcije imati veću varijabilnost u odnosu na selektivno značajne gene, koji povećavaju adaptivnu vrednost nosioca (Tajima, 1989). Upravo istovremenom analizom velikog broja lokusa širom genoma, omogućeno je sagledavanje razlika u genetičkoj varijabilnosti koje su uzrokovane različitim procesima, čime je omogućena identifikacija uskih regiona u genomu na koje je delovala selekcija (Nielsen, 2005; Storz, 2005; Tang i sar., 2007).

2.2.1.3. PRIMENA „HITCHHIKING“ MAPIRANJA

Pionirska primena fenomena genetičkog stopiranja za mapiranje gena započela je početkom XXI veka sa ciljem utvrđivanja genetičke osnove lokalnih adaptacija prirodnih populacija. Ovaj pristup se pokazao kao uspešan prilikom detekcije lokusa koji su odgovorni za adaptacije na nadmorsku visinu, adaptacije duž gradijenta saliniteta, geografske širine ili adaptacije na uslove suše (Bonin i sar., 2006; Kane i Rieseberg, 2007; Pavlidis, 2010; Coyer i sar., 2011; Cheng i sar., 2013). Polazeći od osnovne ideje da selekcija, kako prirodna tako i veštačka, dovodi do smanjenja molekularnog diverziteta u regionima genoma koji su u vezi sa svojstvima od adaptivnog ili agronomskog značaja (Vigouroux i sar., 2002), isti model je uspešno primenjen i na gajene biljne vrste sa ciljem identifikacije genomskih regiona koji su odgovorni za procese domestikacije i oplemenjivanja (Doebly i sar., 2006). Tokom ovih istraživanja praćeno je smanjenje diverziteta kod gajenih sorti i lokalnih populacija u odnosu na divlje srodnike. Primena „*hitchhiking*“ mapiranja za analizu gajenih biljnih vrsta je umnogome olakšana velikim izborom dostupnih predačkih genotipova koji se čuvaju u bankama gena (Beissinger i sar., 2013). Za proučavanje uticaja selekcije tokom domestikacije i oplemenjivanja gajenih biljnih vrsta je najčešće korišćen kukuruz. Poređenjem diverziteta divljeg srodnika (teosinte), lokalnih populacija i modernih inbred linija, analizom mikrosatelita (Vigouroux i sar., 2002), DNK sekvenci (Wright i sar., 2005; Yamasaki i sar., 2005) i pristupom resekvenciranja (Hufford i sar., 2012; Jiao i sar., 2012), identifikovano je više lokusa na koje je delovala selekcija, od kojih se većina nalazila u blizini već mapiranih gena ili QTL-ova za agronomski važna svojstva. Utvrđeno je da je tokom domestikacije selekcija delovala na približno 4% gena kukuruza (Wright i sar., 2005). Isti princip mapiranja je uspešno primenjen i kod drugih gajenih biljnih vrsta, pšenice (Haudry i sar., 2007; Wang i sar., 2012; Cavanagh i sar., 2013), suncokreta (Burke i sar., 2005; Liu i Burke, 2006; Kane i Rieseberg, 2007; Chapman i sar., 2008; Chapman i sar., 2013), pirinča (Olsen i sar., 2006; Zhu i sar., 2007; He i sar., 2011; Xu i sar., 2011) i šećerne trske (Casa i sar., 2005; Hamblin i sar., 2006; Morris i sar., 2013).

„*Hitchhiking*“ mapiranje je korišćeno i za proučavanje promena na nivou genoma soje koje su nastale tokom procesa domestikacije i oplemenjivanja. Identifikacija i mapiranje major gena odgovornih za domestikaciju bi mogli omogućiti primenu marker asistiranog

oplemenjivanja kod soje, sa ciljem unapređenja agronomski značajnih osobina (Chung i sar., 2014). Kod modernih sorti su identifikovane četiri supstitucije u genu *Dt1* na koje je delovala selekcija i koje su uticale na prelaz od nedeterminantnog tipa rasta, karakterističnog za divlje srodnike, ka determinantnom tipu rasta modernih sorti soje (Tian i sar., 2010). Takođe, prilikom poređenja diverziteta mikrosatelita između divljih srodnika i gajene soje sa prostora Severne Koreje, kod markera koji su bili u vezi sa agronomski značajnim osobinama, kao što je količina proteina u semenu, uočena je veća genetička diferencijacija između divlje i gajene soje u odnosu na markere koji nisu bili u vezi sa poznatim QTL-ovima (Jun i sar., 2011). Istim pristupom su takođe identifikovana dva SNP markera na koje je delovala selekcija tokom domestikacije, a koji su bili u vezi sa bojom semenjače. Utvrđeno je da su ovi markeri uticali na prelaz od crne boje semenjače kod divljih srodnika, ka pretežno žutoj kod lokalnih populacija i modernih sorti (Li i sar., 2014b). Analizom celokupnog genoma soje divljih srodnika, lokalnih populacija i elitnih sorti soje, pomoću mikročipa SoySNP50K, uočeno je ukupno 620 i 42 regiona, sa veoma visokom prosečnom vrednosti indeksa fiksacije, između divljih srodnika i lokalnih populacija kao i lokalnih i elitnih populacija, koji su najverovatnije sadržali lokuse u vezi sa domestikacijom ili sa dugogodišnjim oplemenjivanjem soje u Severnoj Americi (Song i sar., 2013). Nakon objavljivanja prve sekvence genoma soje (Schmutz i sar., 2010), sproveden je niz istraživanja koja su poredila rezultate resequenciranja genoma divljih srodnika, lokalnih populacija i modernih, gajenih sorti (Lam i sar., 2010; Joshi i sar., 2013; Li i sar., 2013; Chung i sar., 2014). Sva istraživanja su ukazala na progresivno smanjenje genetičkog diverziteta usled uticaja domestikacije i oplemenjivanja, kao i na značajne razlike koje se javljaju između divljih predaka i modernih sorti u regionima genoma koji nose agronomski značajne gene (Joshi i sar., 2013). Utvrđeno je da je selekcija tokom domestikacije delovala na samo 1,47% celog genoma. U identifikovanim regionima se nalazilo ukupno 928 gena, što ukazuje da je selekcija delovala na 2% od ukupno 46.430 pretpostavljenih gena soje (Li i sar., 2013). Uočeno je da je najveći broj kandidat gena uticao na razvoj semena, morfologiju i rast biljke, kao i regulaciju transkripcije (Chung i sar., 2014). Kod drugih gajenih biljnih vrsta kao što su kukuruz i pirinač je takođe uočeno delovanje selekcije tokom domestikacije na gene koji su bili homologični genima soje (Chung i sar., 2014), čime je potvrđena činjenica da se QTL-ovi koji determinišu osobine u vezi sa domestikacijom, kod različitih vrsta, često nalaze u

sintenijskim regionima (Ross-Ibarra, 2005). Smatra se da je jedini nedostatak korišćenja podataka dobijenih resequenciranjem mali broj ispitivanih genotipova (Lam i sar., 2010; Xu i sar., 2011; Hufford i sar., 2012; Li i sar., 2013), što može smanjiti snagu detekcije a povećati rizik od pojave lažno pozitivnih rezultata.

Prilikom identifikovanja genomskih promena uzrokovanih domestikacijom i oplemenjivanjem, „*hitchhiking*“ mapiranje se pokazalo kao veoma efikasno, te ukoliko se sličan pristup primeni za poređenje gajenih predačkih i elitnih sorti, mogu se identifikovati promene na genomu koje su posledica procesa modernog oplemenjivanja soje. S obzirom da je intenzitet selekcije koja deluje tokom oplemenjivanja značajno veći u odnosu na selekciju tokom domestikacije (Palaisa i sar., 2004), kao i činjenice da se odvijala u skorijem vremenskom periodu, identifikacija promena koje nastaju u genomu je još lakša (Olsen i sar., 2006; Teshima i sar., 2006). Korišćenjem analize pedigrea elitne sorte soje i pristupa „*hitchhiking*“ mapiranja identifikovani su genomski regioni na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima Kanade (Grainger, 2012). Poređenjem pozicije ovih regiona sa pozicijama QTL-ova soje koji su prethodno mapirani drugim pristupima, identifikovani su QTL-ovi koji utiču na dužinu vegetacije, otpornost na bolesti, sadržaj proteina i prinos, dovodeći do zaključka da su ove fenotipske osobine najverovatnije bile pod uticajem selekcije tokom oplemenjivanja u agroklimatskim uslovima Kanade (Grainger, 2012). Do sada su sprovedena pilot istraživanja genetičke diferencijacije i varijabilnosti manjeg broja genoma predačkih i elitnih genotipova soje sa prostora centralne i istočne Evrope (Đorđević i sar., 2013), koja su dala uvid u mogućnosti primene „*hitchhiking*“ mapiranja kod ispitivanih populacija.

2.2.1.4. PREDNOSTI I NEDOSTACI „*HITCHHIKING*“ MAPIRANJA

Pogodnost primene fenomena genetičkog stopiranja i pristupa populacione genetike za identifikaciju gena na koje je delovala selekcija je što se istraživanja mogu sprovoditi direktno na oplemenjivačkom materijalu. Korišćenjem „*hitchhiking*“ mapiranja i pedigre analize, odnosno pravilnim odabirom genotipova, moguće je sagledati efekte određenog lokusa u različitom genetičkom okruženju, kao i utvrditi celokupnu genetičku varijabilnost lokusa. Osim toga, na ovaj način se mogu koristiti i već postojeći podaci o fenotipskim

svojstvima koji su dobijeni iz ranijih istraživanja (Jannink i sar., 2001), a koji predstavljaju prosečne vrednosti za određeno geografsko područje, uzevši u obzir da su analize obavljane tokom više godina i u različitim agroklimatskim uslovima. Činjenica da ne zahteva prethodno poznavanje fenotipskih osobina na koje je delovala selekcija daje veliku prednost pristupu „*hitchhiking*“ mapiranja, koje se zasniva samo na upotrebi molekularnih markera.

Identifikaciju regiona na koje je delovala selekcija ipak može ugroziti nekoliko faktora. Kako tokom različitih stadijuma oplemenjivanja selekcija zahvata različite regione genoma, delovi koji nose lokuse koji su u predačkoj populaciji već fiksirani selekcijom tokom ranog perioda oplemenjivanja mogu predstavljati potencijalne slabe tačke ovog pristupa (Jiao i sar., 2012). Kao što je već napomenuto, drugi izazov se javlja prilikom razlikovanja genomskih promena koje su nastale usled delovanja selekcije i onih koje su posledica demografskih događaja (genetički drift i genetičko usko grlo) (Schlötterer, 2003; Storz, 2005; Teshima i sar., 2006). Na osnovu analize većeg broja markera koji su locirani širom genoma bi se mogla utvrditi varijabilnost na nivou celog genoma, što bi omogućilo detekciju lokusa čija je varijabilnost niža od prosečne, odnosno selektivno značajnih lokusa (Schlötterer, 2003). Osim toga, pristup „*hitchhiking*“ mapiranja se suočava sa problemom identifikacije lažno pozitivnih rezultata. U velikom broju istraživanja je na iste podatke primenjeno više od jedne metode za identifikaciju lokusa na koje je delovala selekcija, što je često ukazivalo na nedosledne rezultate različitih pristupa (Bonin i sar., 2006; Kane i Rieseberg, 2007; Mäkinen i sar., 2008). Na osnovu ovoga je zaključeno da se pouzdanost rezultata povećava sa primenom više nezavisnih metoda koje se zasnivaju na različitim hipotezama, pri čemu lokusi za koje najmanje dva testa ukažu na delovanje selekcije, predstavljaju kandidat lokuse veće pouzdanosti (Storz, 2005; Bonin i sar., 2006). Pored toga, korišćenje različitih modela može dovesti i do identifikacije dodatnih regiona koji se primenom drugih statističkih metoda potencijalno ne bi uočili. Navedeni problem je takođe moguće prevazići povećanjem broja analiziranih markera u blizini lokusa kandidata. Ukoliko je delovanje selekcije u određenom genomskom regionu bio lažan signal, postoje male šanse da će ovo biti potvrđeno kod više markera, a istovremeno, blisko locirani markeri mogu suziti genomski interval na koji je selekcija delovala (Wiehe i sar., 2007).

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Problem istraživanja ove doktorske disertacije predstavlja utvrđivanje uticaja selekcije koja je delovala tokom višegodišnjeg oplemenjivanja na genom elitnih genotipova soje, koji se gaje ili su se gajili na prostorima centralne i istočne Evrope, a koji su nastali u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, kroz ostvarivanje narednih ciljeva:

- ❖ analizom pedigree elitnih genotipova, utvrđivanje svih predačkih sorti i određivanje njihovog roditeljskog doprinosa genotipovima elitne populacija, što će odrediti konačan odabir genotipova predačke populacije, koji će dalje biti korišćeni u istraživanju;
- ❖ kvantifikovanje genetičkog diverziteta u elitnoj i predačkoj populaciji soje, analizom polimorfности mikrosatelitskih lokusa (selektivno neutralnih regiona genoma) i izračunavanjem populaciono-genetičkih parametara;
- ❖ određivanje genetičke strukture ispitivanih populacija, grupisanjem analiziranih genotipova soje u genetički različite grupe, primenom programa STRUCTURE;
- ❖ određivanje stepena genetičke diferencijacije populacija soje, korišćenjem više različitih pristupa, koji obuhvataju izračunavanje indeksa fiksacije, analizu glavnih koordinata (PCoA) i analizu molekularne varijanse (AMOVA);
- ❖ identifikacija mikrosatelitskih lokusa, odnosno regiona genoma soje na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope, koristeći fenomen genetičkog stopiranja (*“hitchhiking”* mapiranje) i primenu više različitih metoda: empirijskih, koji se zasnivaju na smanjenju diverziteta mikrosatelitskih lokusa i povećanju populacione diferencijacije, kao i pristupa koji se zasnivaju na povećanju populacione diferencijacije i korišćenju demografskih modela;
- ❖ validacija dobijenih rezultata, analizom genetičkog diverziteta i diferencijacije elitne i predačke populacije soje na osnovu različitih grupa lokusa, selektivno pozitivnih i neutralnih, testiranjem prolaska populacija kroz genetičko usko grlo, kao i utvrđivanjem nivoa gametskog disekvilibrjuma u analiziranim populacijama soje;

- ❖ *In silico* analiza genomskih regiona koji su se nalazili u selektivnoj prednosti, pretragom baza podataka i bioinformatičkim analizama, kako bi se, kao krajnji cilj, obavila identifikacija lokusa za kvantitativne osobine ili major gena koji determinišu svojstva na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja soje u centralnoj i istočnoj Evropi, te imaju praktičan značaj u specifičnim agroklimatskim uslovima ovog regiona.

U radu će biti sagledana mogućnost primene “*hitchhiking*” mapiranja za identifikaciju genomskih regiona koji su od praktičnog značaja za oplemenjivanje soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Osim toga, rezultati doktorske disertacije bi, putem karakterizacije varijabilnosti, trebalo da upotpune znanja o genetičkoj kolekciji soje koja čini germplazmu u programima oplemenjivanja u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Na ovaj način će biti omogućeno i sagledavanje posledica veštačke selekcije na bogatstvo genskog fonda. “*Hitchhiking*” mapiranje funkcionalno značajnih regiona genoma za određeni oplemenjivački program, identifikovanje i karakterizacija major gena ili QTL-ova na koje je delovala selekcija tokom stvaranja elitnih sorti je od velike važnosti, jer ovi lokusi mogu predstavljati važne regione za buduće smerove oplemenjivanja. Očekuje se da će na osnovu dobijenih rezultata istraživanja biti omogućena identifikacija specifičnih alela ili kombinacija alela koji su favorizovani tokom selekcije u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope, što bi moglo doprineti unapređenju molekularnog oplemenjivanja, trenutno najperspektivnijeg načina selekcije. Genotipovi za koje se utvrdi da su nosioci poželjnih alelnih varijanti koje utiču na povećanje prinosa postaju roditeljski kandidati za dalja ukrštanja, u cilju stvaranja novih sorti sa poboljšanim genetičkim potencijalom za prinos.

4. RADNA HIPOTEZA

Radne hipoteze ovog istraživanja su bile sledeće:

- ❖ elitne sorte soje imaju usku genetičku osnovu, uzrokovanu malim brojem osnivačkih, predačkih genotipova i ukrštanjem “*elite by elite*”;
- ❖ odabrani mikrosatelitski lokusi ispoljavaju adekvatan nivo polimorfnosti za poređenje predačke i elitne populacije soje, te su primenljivi molekularni markeri za analizu genetičkog diverziteta i ispitivanje populacione diferencijacije, a osim toga, usled bliske vezanosti sa genima soje, na osnovu ovih molekularnih markera se mogu pratiti i geni favorizovani tokom selekcije;
- ❖ kao posledica dugogodišnjeg i intenzivnog oplemenjivanja, elitna populacija soje ima manji genetički diverzitet u odnosu na predačku populaciju, koji je naročito izražen u regionima genoma zahvaćenim delovanjem selekcije;
- ❖ postoji genetička struktuiranost predačke i elitne populacije soje, kao i određeni stepen među-populacione diferencijacije;
- ❖ u elitnoj populaciji soje je tokom oplemenjivanja delovala jaka selekcija koja je dovela do promena u pojedinim regionima genoma, a koje se ogledaju u značajnom smanjenju genetičkog diverziteta i visokom stepenu među-populacione diferencijacije;
- ❖ prilikom detekcije lokusa na koje je delovala selekcija može se uočiti određeni udeo lažno pozitivnih rezultata;
- ❖ nakon delovanja selekcije dolazi do povećanja stope gametskog disekvilibrizma;
- ❖ elitna populacija soje nije prošla kroz genetičko usko grlo;
- ❖ lokusi na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja determinišu agronomski značajna svojstva koja imaju ulogu u adaptaciji elitnih sorti soje na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope.

5. MATERIJAL I METODE RADA

5.1. FORMIRANJE MAPIRAJUĆIH POPULACIJA

Identifikovanje regiona genoma soje na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja i adaptacije na specifične agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope, obavljeno je poređenjem populacija koje su se sastojale od elitnih i predačkih genotipova.

Najpre je formirana elitna populacija, odabirom 54 visoko-prinosne sorte, koje se gaje ili su se gajile u Srbiji, kao i na prostorima centralne i istočne Evrope (Tabela 1). Sve odabrane sorte su nastale u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, a priznate su u periodu između 1983. i 2013. godine. Bili su zastupljeni genotipovi različite dužine vegetacije, od vrlo ranih do kasnostasnih (grupe zrenja od 000 do III).

Nakon formiranja elitne populacije, obavljena je analiza pedigrea svakog pojedinačnog genotipa do najranijih poznatih predaka (Prilog: Tabela 1). Tom prilikom je izračunat roditeljski doprinos svake predačke sorte (eng. *parental contribution*) pedigreu elitne, odnosno, izračunat je koeficijent roditeljstva (eng. *coefficient of parentage*). Izračunavanje je obavljeno na osnovu pretpostavke da je verovatnoća nasleđivanja alternativnih alela 0,5, uzevši u obzir činjenicu da se 50% roditeljskih gena prenosi na potomke. Za svaku predačku sortu je zatim izračunata prosečna vrednost udela u pedigreima elitnih sorti (Tabela 2, Prilog: Tabela 1). U pedigreima 54 elitnih genotipova učestvovalo je ukupno 46 predačkih sorti. Odabir sorti koje će činiti predačku populaciju je potom obavljen na osnovu dostupnosti genotipova i udela u pedigreima elitnih sorti. Na ovaj način je obuhvaćeno 28 genotipova koji su formirali predačku populaciju (Tabela 2).

Tabela 1. Genotipovi elitne populacije soje

Sorta	Grupa zrenja	Godina priznavanja	Sorta	Grupa zrenja	Godina priznavanja
Gracia	000	2006	Venera	I	2002
NS Kaća	000	2013	Ana	I	2003
Krajina	00	1993	Drina	I	2004
Jelica	00	1994	Glorija	I	2004
Fortuna	00	2003	Sava	I	2004
Meli	00	2004	Šapčanka	I	2004
Julija	00	2007	Zvezda	I	2004
Merkur	00	2008	Diva	I	2007
Tajfun	00	2010	Victoria	I	2009
NS Virtus	00	2011	Aleksandra	I	2010
Afrodita	0	1994	Zlata	I	2010
Belka	0	1996	NS Optimus	I	2012
Nađa	0	2001	NS Apolo	I	2013
Proteinka	0	2001	Indijana	I/II	1997
Valjevka	0	2003	NS - 21	II	1988
Bečejka	0	2004	NS - 202	II	1989
Alisa	0	2005	Mačvanka	II	1993
Galina	0	2006	Vojvođanka	II	1994
NS Maximus	0	2011	Avala	II	1995
NS Zenit	0	2011	Mima	II	2004
NS Princeza	0	2013	Idila	II	2008
NS - 9	I	1983	Rubin	II	2008
NS - 105	I	1989	NS Sirius	II	2012
Balkan	I	1994	NS Fantast	II	2013
Ravnica	I	1994	NS Zita	II	2013
Vera	I	1996	Morava	III	2001
Novosađanka	I	2000	Senka	III	2005

U radu je korišćen biljni materijal predačkih genotipova koji se čuva u kolekciji germplazme soje Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu; materijal iz Državnog naučnog centra i Sveruskog istraživačkog instituta biljne proizvodnje Nikolaj Ivanovič Vavilov Ruske akademije poljoprivrednih nauka (VIR), Petrograd, Rusija; kao i materijal iz Nacionalnog programa za očuvanje genetičkih resursa, Ministarstva poljoprivrede Sjedinjenih Američkih Država (National Genetic Resources Program, USDA).

Tabela 2. Genotipovi predačke populacije soje

Sorta	Grupa zrenja	Zemlja porekla
Pando	000	SAD
Apache	00	Kanada
Fiskeby 840-7-3	00	Švedska
Fiskeby III	00	Švedska
Flambeau	00	SAD
Manitoba Brown	00	Kanada
Capital	0	Kanada
Four	0	SAD
Kabott	0	Kanada
Mandarin (Ottawa)	0	SAD
Strain No18	0	Nemačka
192	II	Kanada
614/83	II	Nemačka
Colfax	II	SAD
Elgin	II	SAD
Korean	II	Kanada
Mukden	II	SAD
Richland	II	SAD
A.K. (Harrow)	III	Kanada
Dunfield	III	SAD
Harper	III	SAD
Illini	III	SAD
Manchu	III	SAD
Perry	IV	SAD
S-100	V	SAD
Ogden	VI	SAD
CNS	VII	SAD
Roanoke	VII	SAD

Sakupljanje uzoraka svežih, mladih listova soje je obavljeno u polju, u fazi punog cvetanja, sa 15 biljaka od svakog genotipa. Uzorci su adekvatno obeleženi, a zatim preneti u Laboratoriju za biotehnologiju (Institut za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu), gde su čuvani na temperaturi od -80°C.

5.2. METODE

5.2.1. IZOLACIJA GENOMSKE DNK

Ukupna genomska DNK je izolovana iz mladih listova soje upotrebom modifikovane CTAB metode (Doyle i Doyle, 1990; CIMMYT, 2005). U prvom koraku, u tečnom azotu macerirano je oko 100 mg tkiva lista, u koje je zatim dodato 500 µl ekstrakcionog pufera (2% CTAB; 100 mM Tris-HCl pH 8,0; 20 mM EDTA pH 8,0; 1,4 M NaCl; 0,2% β-merkaptotanol), ugrejanog u vodenom kupatilu na 65°C. Tkivo sa ekstrakcionim puferom je inkubirano u vodenom kupatilu na 65°C u trajanju od 30 minuta, uz povremeno blago mešanje sadržaja inverzijom. Nakon inkubacije u smešu je dodato 500 µl hloroform - izoamil alkohola (24:1). Kivete su lagano mešane inverzijom do stvaranja emulzije, a zatim su centrifugirane 10 minuta na 11.000 rpm, na sobnoj temperaturi. Gornja, vodena faza je preneti zasećenim nastavcima u nove kivete, uz dodavanje 350 µl ledenog izopropanola. Sadržaj je lagano promešan, prilikom čega su se izdvajali molekuli DNK u vidu beličastih niti, a zatim je centrifugiran, 5 minuta na 10.000 rpm. Supernatant je odbačen, preostali talog DNK je suspendovan u 200 µl pufera za ispiranje (76% etanol, 10 mM amonijum acetat) i uzorci su potom centrifugirani, 3 minuta na 11.000 rpm. Nakon odlivanja supernatanta, talog je osušen u termobloku, na 35°C, dok nije dobio staklast izgled, posle čega je rastvoren u 50 µl 0,1x TE pufera (10 mM Tris-HCl pH 8,0; 1 mM EDTA pH 8,0). Rastvorena DNK je odložena na 4°C najmanje jedan dan, nakon čega je do daljih analiza čuvana u zamrzivaču na -20°C.

5.2.2. ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE I PROVERAVANJE KVALITETA IZOLOVANE DNK

Koncentracija i čistoća izolovane genomske DNK su određivane spektrofotometrijski. Uzorci su razblaženi 101x u 0,1x TE puferu i merena je apsorbancija na talasnim dužinama od 260 nm i 280 nm pomoću spektrofotometra (MBA 2000, Perkin-Elmer Corp.).

Koncentracija DNK se izračunava prema formuli:

$$c \text{ (}\mu\text{g/ml)} = \frac{A_{260} \times R \times 50}{1000}$$

pri čemu je:

A_{260} - apsorbancija na talasnoj dužini $\lambda=260$ nm;

R - razblaženje uzorka;

50 - koncentracija 50 $\mu\text{g/ml}$ koja po teorijskoj pretpostavci ima apsorbancu $A_{260}=1$.

Za određivanje kvaliteta ekstrahovane DNK računat je odnos apsorbanci A_{260}/A_{280} . Ukoliko je ovaj odnos u opsegu 1,8–2,0, smatra se da je DNK dovoljno čista za analizu molekularnim markerima mikrosatelitima. Vrednosti manje od 1,8 ukazuju da su u uzorku u većoj koncentraciji prisutni proteini.

Nakon određivanja koncentracije i kvaliteta, svi izolovani rastvori DNK su standardizovani do 10 ng/ μl za dalju upotrebu u reakcijama.

5.2.3. MIKROSATELITSKI MARKERI I LANČANA REAKCIJA POLIMERAZE (PCR)

U istraživanju je korišćeno 68 SSR markera (Prilog: Tabela 2), odabranih iz baze podataka (SoyBase, 2015), na osnovu genetičke mape soje "Composite 2003" (Song i sar., 2004). Izabrani mikrosatelitski lokusi su bili tako raspoređeni u genomu soje da pokriju svih 20 hromozoma. Svi analizirani mikrosatelitski markeri su se sastojali od ponovka - ATT, izuzev markera SOYGPATR (CTT) i Sat_084 (AT).

Umnožavanje mikrosatelitskih lokusa je obavljeno pomoću para prajmera. Jedan prajmer iz para je bio fluorescentno obeležen na 5' kraju, sa jednom od četiri fluorofore - 6FAM, VIC, NED ili PET (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Reakcije polimeraze su izvedene u aparatu GeneAmp PCR System 9700, 96-Well Gold-Plated (Applied Biosystems). Reakciona smeša ukupne zapremine 25 µl je sadržala: 30 ng genomske DNK, 1× KCl pufer, 2 mM MgCl₂, 0,2 mM pojedinačnih dNTP u smeši, 0,1 µM para prajmera i 1U enzima *Taq* polimeraza. Pre amplifikacije je obavljena optimizacija reakcije.

PCR reakcija je započela uvodnom denaturacijom na 95 °C u trajanju od 2 minuta. Nakon toga su usledila 33 ciklusa, pri čemu se svaki sastojao od sledećih koraka:

- denaturacija dvolančane DNK na 94°C, u trajanju od 45 sekundi;
- vezivanje prajmera za matičnu DNK na 47°C, u trajanju od 45 sekundi;
- elongacija na 68°C, u trajanju od 45 sekundi.

Reakcija je završena finalnom elongacijom na 72°C u trajanju od 7 minuta. Za umnožavanje svih mikrosatelitskih lokusa je korišćen isti PCR program.

5.2.4. ANALIZA MIKROSATELITSKIH FRAGMENTA

Razdvajanje produkata PCR reakcije, koji su dobijeni umnožavanjem ispitivanih mikrosatelitskih lokusa, je obavljeno kapilarnom elektroforezom, uz pomoć aparata Genetic Analyzer Prism 3130 (Applied Biosystems). PCR produkti su razdvajani i poređeni po veličini, sa preciznošću od jednog baznog para (bp). Za razdvajanje PCR produkata korišćen je polimer POP4 (4% polidimetil akrilamid, 8M urea, 5% 2-pirolidinon) (Applied Biosystems). Fragmentna analiza se odvijala u sistemu od četiri kapilare, dužine 36 cm, koje su dizajnirane za genotipizaciju mikrosatelita, pri čemu se detekcija PCR produkata zasnivala na principu fluorescencije. Odnosno, fluorescentno obeleženi PCR produkti krećući se kroz kapilare od katode prema anodi, prolaze kroz laserski zrak koji emituje aparat i zatim se detektuje emitovano fluorescentno zračenje koje odaje uzorak.

Za analizu dužine fragmenata PCR produkti su sjedinjavani u kombinaciji od četiri ili više markera istovremeno. Spajani produkti reakcije koji su obeleženi istom fluoroforom

su davali produkte različite dužine, koji se ne preklapaju. Za analizu je korišćeno ukupno 2 μl smeše amplifikovanih fragmenata, koji su zatim pomešani sa 7,8 μl Hi-Di formamida (Applied Biosystems) i 0,2 μl standarda molekulske mase (GeneScan 500-LIZ Size Standard, Applied biosystems). Ukupna zapremina smeše je bila 10 μl . Nakon formiranja reakcione smeše, uzorci su denaturisani 5 minuta na 94°C, a zatim postavljeni u DNK sekvencer.

Kontrola rada instrumenta i unos podataka o uzorcima su obavljani primenom softvera *Data Collection*, verzija 3.0 (Applied Biosystems). Nakon završene analize, određene su veličine amplifikovanih fragmenata uz pomoć *Gene Mapper* softvera, verzija 4.0 (Applied Biosystems), koji određuje dužinu PCR produkata na osnovu poređenja sa internim standardom.

5.3. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

5.3.1. ANALIZA GENETIČKE VARIJABILNOSTI POPULACIJA SOJE

Diverzitet analiziranih mikrosatelitskih markera unutar populacija soje je izražen pomoću različitih populaciono-genetičkih parametara, dobijenih korišćenjem različitih programskih paketa. U okviru Excell Microsatellite Toolkit, verzija 3.1 (Park, 2001) računati su broj alela po lokusu (N_a), frekvencija alela, očekivana (H_e) heterozigotnost lokusa i indeks polimorfizma (PIC , eng. *Polymorphism Information Content*). Parametar „allelic richness“ (R_s) je dobijen pomoću programa FSTAT 2.9.3 (Goudet, 2001), dok su efektivan broj alela (N_e) i broj jedinstvenih alela (N_p , eng. *private alleles*) računati primenom programa GenAlEx 6.5 (Peakall i Smouse, 2012).

Parametri genetičkog diverziteta su računati za svaku populaciju pojedinačno.

Očekivana heterozigotnost (H_e , eng. *Nei's unbiased gene diversity*) (Nei, 1973) predstavlja frekvenciju očekivanih heterozigota za dati lokus pri slučajnom ukrštanju.

$$H_e = 1 - \sum p_i^2$$

pri čemu je: p_i -frekvencija i -tog alela određenog lokusa. Prosečna vrednost H_e za sve lokuse predstavlja procenu obima genetičke varijabilnosti u populaciji.

Indeks polimorfnosti (*PIC*) (Botstein i sar., 1980) kao mera polimorfizma određenog molekularnog markera, je izračunat prema formuli:

$$PIC = 1 - \sum x_i^2$$

pri čemu je: x_i -relativna frekvencija i -tog alela.

Parametar „*allelic richness*“ (R_s) označava diverzitet alela, odnosno broj alela po lokusu, koji ne zavisi od veličine uzorka, tj. uzima u obzir razliku u veličini uzoraka između populacija. Ovim je omogućeno poređenje uzoraka različite veličine, upotrebom statističke tehnike refrakcije uzorka, prema formuli:

$$R_s = \sum_{i=1}^{n_i} \left[1 - \frac{\binom{2N-N_i}{2N}}{\binom{2N}{2n}} \right]$$

pri čemu je: N - broj uzorkovanih jedinki,

$2N$ - broj uzorkovanih alela,

N_i - broj alela i u populaciji,

n - veličina najmanjeg uzorka u analizi,

$2n$ - broj alela najmanjeg uzorka u analizi.

Efektivan broj alela (N_e) predstavlja broj alela jednakih frekvencija koji bi bio potreban kako bi se dobila heterozigotnost uočena u populaciji. Ovaj parametar genetičkog diverziteta je takođe manje osetljiv na veličinu uzorka i prisustvo retkih alela i omogućava poređenje diverziteta lokusa koji imaju različitu distribuciju frekvencija alela. Izračunava se pomoću formule:

$$N_e = \frac{1}{1 - H_e}$$

pri čemu je H_e – očekivana heterozigotnost.

U cilju utvrđivanja značajnosti razlika srednjih vrednosti parametara genetičke varijabilnosti (N_a , R_s , H_e , PIC) između analiziranih populacija korišćen je neparametrijski Mann-Whitney (MW) test.

5.3.2. GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA SOJE

Na osnovu izračunatih frekvencija alela mikrosatelitskih lokusa i primenom programa STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard i sar., 2000), definisana je genetička struktura populacija. Analize u navedenom programu obavljaju grupisanje jedinki, koje imaju karakteristične frekvencije alela, u podgrupe (klaster) kako bi se postiglo stanje Hardy-Vajnbergovog i gametskog ekvilibrijuma (eng. *linkage equilibrium*) unutar populacija.

U ovom programu je implementiran algoritam koji se zasniva na modelu Bajesovog metoda grupisanja (eng. *Bayesian clustering method*). Podešavanjem parametara je definisan tok analize, prilikom čega je pretpostavljeno mešano poreklo ispitivanih jedinki (eng. *admixture model*), koje pretpostavlja da svaka jedinka nosi određeni deo genoma svake od K populacija. Odnosno, jedinke se mogu istovremeno rasporediti, na osnovu verovatnoće, u dve ili više (K) populacija. U analizu je takođe uvršten model nezavisnih frekvencija alela (eng. *independent allele frequencies*) koji pretpostavlja različite frekvencije alela u populacijama, što je očekivano i u našem slučaju nakon delovanja selekcije, a karakteriše se parametrom Λ (lambda). Najčešće se podešava da je $\Lambda=1$. Ostali parametri analize su definisali 50.000 Markov chain Monte Carlo (MCMC) ponavljanja, nakon odbacivanja prvih 10.000 ponavljanja (eng. *burn-in*). Hipotetički broj očekivanih podgrupa (K) kretao se od 1 do 5, pri čemu je za svaku ispitivanu K vrednost analiza ponovljena 5 puta. Program STRUCTURE razvrstava sve genotipove čija je vrednost koeficijenta pripadnosti grupi (Q) veća od 0,5 u isti klaster, tako da je suma svih koeficijenata jednaka 1.

U programu STRUCTURE se, sa ciljem određivanja optimalnog broja genetičkih klastera u analiziranom uzorku, procenjuje *a posterior* verovatnoća za dati broj pretpostavljenih genetičkih klastera (K), odnosno izračunava se parametar $L(K)$ (Pritchard i sar., 2000). Međutim, logaritamska distribucija $L(K)$ ne ukazuje jasno na pravu vrednost genetičkih klastera. Usled ovoga je primenjen i metod korekcije podataka (ΔK metod) (Evanno i sar., 2005), koja se obavlja matematičkim preračunom iz vrednosti $L(K)$ u ΔK . Pomoću ΔK vrednosti se može jasno istaći prekid logaritamske distribucije $L(K)$ na mestu K koji označava optimalan broj genetičkih klastera, pri čemu najveća vrednost ΔK predstavlja stvaran broj klastera unutar populacije. Za određivanje najverovatnijeg broja klastera (K) u

analiziranom uzorku je upotrebljen softver STRUCTURE HARVESTER (Earl i vonHoldt, 2012).

5.3.3. GENETIČKA DIFERENCIJACIJA POPULACIJA SOJE

Za kvantifikaciju populaciono-genetičke diferenciranosti korišćen je *Fst parametar*. Indeks fiksacije između subpopulacija, uzimajući u obzir frekvencije alela, ukazuje na stepen inbridinga unutar subpopulacije u odnosu na ukupnu populaciju, odnosno skup svih subpopulacija, i izražava verovatnoću da dva alela slučajno uzeta iz subpopulacije imaju identično poreklo. *Fst* indeks fiksacije se izračunava kao mera smanjenja očekivane heterozigotnosti, u uslovima Hardi-Vajnbergove ravnoteže, na jednom nivou populacione hijerarhije (subpopulacija - H_s) u odnosu na viši nivo hijerarhije (skup svih subpopulacija - H_t) (Hartl i Clark, 1997).

$$Fst = \frac{H_t - H_s}{H_t}$$

Ukoliko ne postoji genetička diferenciranost, frekvencije alela će biti jednake u različitim populacijama i *Fst* će imati minimalnu vrednost (0). Suprotno ovome, kada su u populacijama fiksirani različiti aleli, parametar *Fst* će imati maksimalnu vrednost (1). Smatra se da je populaciono-genetička diferencijacija: (a) niska - ukoliko je *Fst* vrednost manja od 0,05; (b) umerena - kada je *Fst* vrednosti između 0,05 i 0,15; (c) visoka - ukoliko je *Fst* vrednost u opsegu od 0,15 do 0,25; (d) veoma visoka - kada je *Fst* vrednost veća od 0,25 (Wright, 1978).

Za izračunavanje vrednosti genetičke diferencijacije između predačke i elitne populacije po lokusima, upotrebljen je program PopGene, verzija 1.31 (Yeh i sar., 1999).

U cilju ispitivanja hijerarhijske podele ukupne genetičke varijabilnosti unutar i između populacija korišćena je *analiza molekularne varijanse (AMOVA)* (Excoffier i sar., 1992). Uz pomoć AMOVA utvrđeni su indeksi genetičke strukture na osnovu frekvencija alela, prilikom čega se, za razliku od drugih pristupa, uzima u obzir i informacija o alelskom sastavu haplotipova. Hijerarhijskom analizom, ukupna varijansa je podeljena na kovarijacione komponente usled individualnih, unutarpopulacionih i međupopulacionih

razlika. Na osnovu navedenih komponenti izračunati su indeksi fiksacije. Značajnost komponenti varijanse koje su u vezi sa različitim nivoima genetičke strukture je testirana neparametrijskim permutacionim testom. Verovatnoća značajnosti je procenjena pomoću 1.000 permutacija. Analiza molekularne varijanse svakog lokusa obavljena je pomoću softverskog paketa Arlequin, verzija 3.5 (Excoffier i Lischer, 2010).

Kako bi se što bolje opisala raspodela genetičke varijabilnosti, analiza molekularne varijanse je obavljena na različito grupisanim podacima. AMOVA je prvo primenjena na skup svih mikrosatelitskih markera, sa genotipovima grupisanim u predačku i elitnu populaciju. Nakon klasifikacije lokusa prema delovanju selekcije, analizirani su pojedinačno skup neutralnih kandidat lokusa i skup pozitivnih kandidat lokusa, pri čemu je zadržana podela genotipova na predačku i elitnu populaciju.

Analiza glavnih koordinata (eng. *Principal Coordinate Analysis, PCoA*) omogućava pronalaženje i grafičko prikazivanje odnosa u okviru velikog skupa podataka (npr. veći broj lokusa i uzoraka), olakšavajući na taj način njihovu interpretaciju. Prilikom analize, koordinate glavnih osa varijabilnosti se postavljaju u okviru višedimenzionalnog skupa podataka, na osnovu čega se predstavlja udaljenost među uzorcima. Kada postoje posebne grupe u okviru velikog skupa podataka, prve dve ili tri ose najčešće ukazuju na veći deo razlika između grupa, dok svaka naredna osa objašnjava proporcijalno manji udeo ukupne varijabilnosti.

Programski paket GenALEX 6.5 (Peakall i Smouse, 2012) je upotrebljen za računanje Cavalli-Sforza i Edwards (1967) genetičke udaljenosti između pojedinih genotipova. Dobijena matrica genetičkih udaljenosti je potom poslužila za analizu glavnih koordinata.

5.3.4. IDENTIFIKACIJA LOKUSA NA KOJE JE DELOVALA SELEKCIJA

Identifikacija lokusa na koje je delovala selekcija prilikom adaptacije soje na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope je obavljena primenom četiri različite metode, dve empirijske i dve koje su se zasnivale na demografskim modelima.

5.3.4.1. EMPIRIJSKI PRISTUP KOJI SE ZASNIVA NA SMANJENJU DIVERZITETA

MIKROSATELITSKIH LOKUSA

Primenjeni su empirijski, kvantitativni testovi, $\ln RV$ i $\ln RH$ (Schlötterer, 2002; Schlötterer i Dieringer, 2005), koji porede varijabilnost mikrosatelitskih lokusa između dve populacije, zasnivajući se na pretpostavci o smanjenju genetičkog diverziteta u genomskim regionima na koje je delovala selekcija (eng. *selective sweep*).

$\ln RV$ test za izražavanje genetičke varijabilnosti koristi varijansu broja ponovaka mikrosatelita (Schlötterer, 2002):

$$\ln[E(RV)] = \ln \left[E \left(\frac{\frac{1}{2}\theta_{Pop1}}{\frac{1}{2}\theta_{Pop2}} \right) \right] \cong \ln \left[E \left(\frac{(2N_{ePop1}\mu)}{(2N_{ePop2}\mu)} \right) \right] = \left[\frac{E(V_{Pop1})}{E(V_{Pop2})} \right]$$

pri čemu je N_{ePop} efektivna veličina populacije, a μ stopa mutacije mikrosatelita.

$\ln RH$ test (Schlötterer i Dieringer, 2005) ispituje promene genetičkog diverziteta mikrosatelitskih lokusa između dve populacije usled delovanja selekcije, koristeći očekivanu heterozigotnost (He) za opisivanje varijabilnosti populacija:

$$\ln[E(RH)] = \ln \left[E \left(\frac{\theta_{Pop1}}{\theta_{Pop2}} \right) \right] \cong \ln \left[E \left(\frac{\left(\left(\frac{1}{1-H_{Pop1}} \right)^2 - 1 \right) \frac{1}{8\mu}}{\left(\left(\frac{1}{1-H_{Pop2}} \right)^2 - 1 \right) \frac{1}{8\mu}} \right) \right] = \ln \left[\frac{E \left(\left(\frac{1}{1-H_{Pop1}} \right)^2 - 1 \right)}{E \left(\left(\frac{1}{1-H_{Pop2}} \right)^2 - 1 \right)} \right]$$

pri čemu je H_{Pop} očekivana heterozigotnost populacije.

Identifikacija mikrosatelita koji su u vezi sa regionima na koje je delovala selekcija obavljena je na osnovu odstupanja od normalne (Gausove) raspodele $\ln RV$ i $\ln RH$ vrednosti, koja se očekuje kod lokusa na koje nije delovala selekcija. Karakteristike distribucije su određene pomoću Kolmogorov-Smirnov testa, nakon čega su $\ln RV$ i $\ln RH$ vrednosti standardizovane. Na osnovu empirijske raspodele standardizovanih vrednosti obavljena je identifikacija lokusa na koje je delovala selekcija, pri čemu je očekivano da će 95% lokusa imati p -vrednost u intervalu između $-1,96$ i $1,96$, dok lokusi izvan ovog intervala statistički značajno odstupaju ($p < 0,05$) od normalne raspodele i predstavljaju potencijalne regione na koje je delovala selekcija (Schlötterer, 2002).

5.3.4.2. EMPIRIJSKI PRISTUP KOJI SE ZASNIVA NA POVEĆANJU POPULACIONE DIFERENCIJACIJE

Uzimajući u obzir da pozitivna selekcija često povećava stepen alelske diferencijacije među populacijama, indeks fiksacije (F_{st}) je osim za kvantifikaciju genetičke diferenciranosti populacija korišćen i kao indikator delovanja selekcije (Nielsen, 2005). Usvojen je kriterijum prema kome lokusi na koje je delovala pozitivna selekcija imaju F_{st} vrednost najmanje dva puta veću od prosečne vrednosti za sve lokuse. Ovaj pristup je takođe empirijski, a s obzirom da ne koristi preciznu statističku granicu za identifikovanje lokusa na koje je delovala selekcija, primenjene su i druge metode koje se zasnivaju na F_{st} parametru.

5.3.4.3. PRISTUPI KOJI SE ZASNIVAJU NA POVEĆANJU POPULACIONE DIFERENCIJACIJE I KORIŠĆENJU DEMOGRAFSKIH MODELA

Sa ciljem identifikacije mikrosatelitskih lokusa na koje je delovala selekcija, korišćen je metod koji je implementiran u program Lositan (Antao i sar., 2008). Lokusi na koje je delovala selekcija se identifikuju na osnovu odnosa F_{st} vrednosti i očekivane heterozigotnosti (Beaumont i Nichols, 1996; Beaumont i Balding, 2004). Na osnovu simulacija koje su koristile ostrvski model migracije, a koji podrazumeva postojanje ravnoteže između stope mutacija i genetičkog drifta (Strobeck, 1987) izračunava se teorijska (referentna) distribucija F_{st} vrednosti i očekivane heterozigotnosti (Beaumont i Nichols, 1996).

Analiza svih uzoraka u programu Lositan je obavljena u dva koraka. Tokom prvog koraka je, nakon izračunavanja teorijske distribucije, uklonjen početni skup lokusa na koje je delovala selekcija, a koji su se nalazili izvan intervala poverenja od 95%. Nakon toga, izračunata je prosečna, neutralna *Fst* vrednost koristeći samo potencijalno neutralne lokuse koji nisu bili uklonjeni u prethodnom koraku, uz 100.000 simulacija, pretpostavljajući model neograničenog broja alela (eng. *infinite alleles*) i bisekcioni aproksimacijski algoritam (Antao i sar., 2008). U drugom koraku, ponovo je obavljena analiza svih lokusa, nakon čega su identifikovani vanmarginalni lokusi koji imaju prekomerno visoke ili niske *Fst* vrednosti u poređenju sa prosečnom, neutralnom *Fst* vrednosti. Vanmarginalni lokusi su identifikovani poređenjem uočene distribucije primenom ostrvskog modela migracija, sa prosečnom vrednosti u uslovima neutralnosti i na nivou značajnosti $p < 0,05$. Lokusi koji su imali izuzetno visok ili nizak nivo genetičke diferencijacije su identifikovani kao kandidati za delovanje pozitivne ili balansne selekcije.

Naredni pristup za detekciju lokusa koji su bili pod uticajem selekcije je implementiran u program Arlequin, verzija 3.5 (Excoffier i Lischer, 2010) i predstavlja modifikovani pristup Beaumont i Nichols (1996), gde se porede očekivana heterozigotnost (*He*) i indeks fiksacije (*Fst*) kao mera diferencijacije populacija, za svaki lokus pojedinačno. U programu Arlequin je, kao i u programu Lositan, primenjen ostrvski model migracija, koristeći 50.000 simulacija, sa pretpostavkom postojanja 100 dema u svakoj grupi. Osim ovog modela, za formiranje teorijske distribucije odnosa *Fst* i *He*, u programu Arlequin je korišćen i hijerarhijski ostrvski model migracije (Excoffier i sar., 2009). Analize su obavljene primenom modela neograničenog broja alela (eng. *infinite alleles*) i pretpostavke prisustva 10 grupa od 100 dema, koristeći 50.000 simulacija. Na osnovu rezultata simulacija su određene i postavljene granice intervala poverenja koje su poslužile za identifikaciju lokusa na koje je delovala selekcija.

Lokusi koji su se nalazili izvan nivoa poverenja od 95% su predstavljali kandidat lokuse za delovanje selekcije. S obzirom da su pojedine analize u programu Arlequin zahtevale definisanje hijerarhijske strukture populacija, analizirane su dve grupe (predačka i elitna populacija), čija je dalja podela na podgrupe obavljena na osnovu prethodno utvrđene genetičke strukture ovih populacija, odnosno na osnovu dobijenih rezultata u programu STRUCTURE. Genotipovi predačke populacije koji su bili genetički sličniji elitnim

genotipovima i čiji je koeficijent pripadnosti predačkoj populaciji iznosio $Q < 0,5$, su pripadali elitnoj podgrupi predačke grupe, dok je ostatak genotipova pripadao predačkoj podgrupi predačke grupe. Na sličan način su podeljeni i genotipovi elitne populacije, čime je dobijeno ukupno četiri podgrupe koje su bile raspoređene u dve grupe.

Kriterijum za kvalifikaciju lokusa kao jakih kandidata za delovanje selekcije bio je da su identifikovani primenom najmanje dva statistička pristupa, na osnovu čega su svi analizirani lokusi podeljeni u dve grupe, na neutralne i pozitivne kandidat lokuse.

5.3.5. ANALIZA GENETIČKOG USKOG GRLO

(„BOTTLENECK“ ANALIZA)

Kako bi se razlikovali efekti selekcije, koja deluje na pojedinačne lokuse, od demografskih efekata, koji deluju na genom u celosti, testiran je prolazak populacija kroz genetičko usko grlo (eng. *bottleneck*), posebno za skupove neutralnih i kandidat lokusa na koje je delovala selekcija. U populacijama koje su prošle kroz skorašnje smanjenje efektivne veličine, dolazi do smanjenja broja alela i očekivane heterozigotnosti (genetički diverzitet, H_e). Gubitak alela je brži u odnosu na smanjenje heterozigotnosti, te će u takvim populacijama očekivana heterozigotnost biti veća od heterozigotnosti (H_{eq}) koja se očekuje pod pretpostavkom da je populacija bila konstantne veličine, u uslovima ravnoteže genetičkog drifta i mutacija. Vrednost parametra H_{eq} se izračunava na osnovu uočenog broja alela, primenom različitih modela mutacije mikrosatelita. Statistički značajno povećanje heterozigotnosti (eng. *heterozygosity excess*) ukazuje na prolazak populacija kroz genetičko usko grlo (Cornuet i Luikart, 1996), a navedeni pristup je implementiran u programu BOTTLENECK v. 1.2.02 (Piry i sar., 1999).

Odstupanja od očekivane heterozigotnosti su utvrđivana korišćenjem TPM modela mutacija (eng. *two-phase model*) koji pretpostavlja da većina mutacija sledi SMM model mutacija (eng. *stepwise mutation model*, novi aleli nastaju dodavanjem ili gubitkom jednog mikrosatelitskog ponovka), pri čemu uključuje i određeni procenat mutacija koji odstupaju od ovog modela (Di Rienzo i sar., 1994). Kako samo mali broj mikrosatelitskih lokusa sledi SMM model, preporučuje se korišćenje TPM modela, pod pretpostavkom da 90% mutacija prati SMM, a 10% čine višestruke promene. Analize su obavljene koristeći 5.000 simulacija i

varijansu između više koraka koja je iznosila 12. Kako bi se utvrdilo da li su odstupanja očekivanih heterozigotnosti bila statistički značajna ($p < 0,05$) korišćeni su *Sign* i *Wilcoxon* testovi.

5.3.6. GAMETSKI DISEKVILIBRIJUM

Za kvantifikaciju gametskog disekvilibrjuma (eng. *linkage disequilibrium*) korišćeni su parametri D' i r^2 . Standardizovani koeficijent disekvilibrjuma (D') određuje da li je došlo do rekombinacija između alela i predstavlja relativnu vrednost gametskog disekvilibrjuma u odnosu na D vrednost, koja predstavlja maksimalnu moguću vrednost disekvilibrjuma koja se pretpostavlja na osnovu uočenih frekvencija alela. Parametar r^2 predstavlja kvadratni koeficijent korelacije između dva lokusa. Statistička verovatnoća gametskog disekvilibrjuma između svih parova ispitivanih mikrosatelitskih lokusa je računata korišćenjem programskog paketa TASSEL, verzija 2.1 (Bradbury i sar., 2007; Tassel, 2014). Nivo značajnosti vrednosti r^2 između parova lokusa je računat koristeći 1.000 permutacija, pri čemu su iz analize uklonjeni retki aleli, koji su imali frekvenciju manju od 0,05.

Analiza gametskog disekvilibrjuma je obavljena posebno za predačku i elitnu populaciju soje, kao i za parove lokusa koji se nalaze na različitim hromozomima (eng. *unlinked*) i za lokuse sa istih hromozoma (eng. *linked, syntenic*). Za statistički značajne asocijacije između alela različitih lokusa (gametski disekvilibrjum) su uzimani parovi kod kojih je $p < 0,001$.

5.3.7. KARAKTERIZACIJA IDENTIFIKOVANIH SELEKTIVNO ZNAČAJNIH KANDIDAT LOKUSA

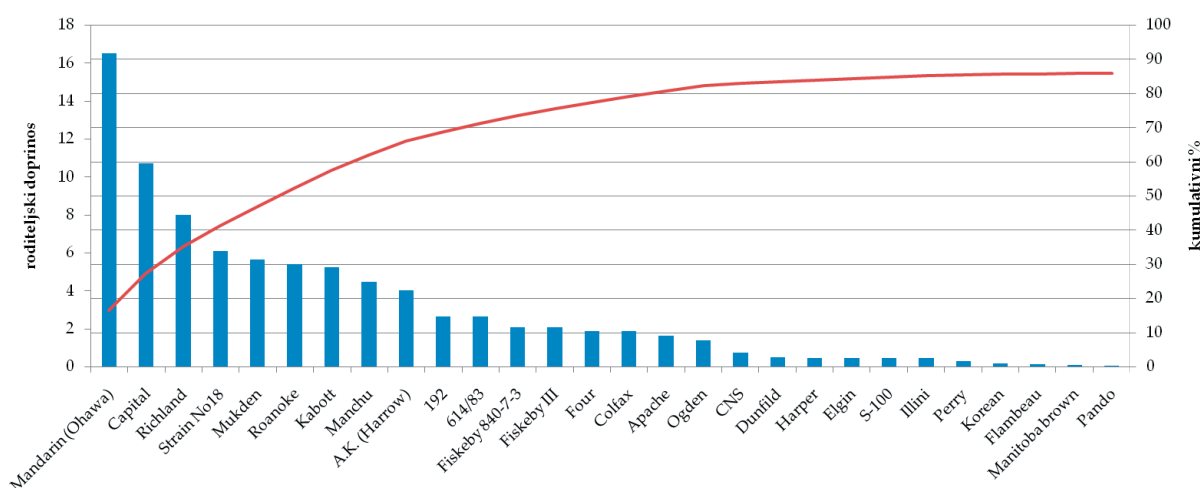
Nakon identifikacije selektivno značajnih lokusa, pristupilo se *in silico* analizi i karakterizaciji genomskih regiona koji su nosili pozitivne kandidat lokuse. Poređene su genomske lokacije selektivno značajnih mikrosatelitskih lokusa i njihovih susednih regiona u intervalu ukupne širine 5 cM, sa položajem prethodno mapiranih lokusa za kvantitativne osobine kod soje. Ovom prilikom je korišćena genetička mapa "Composite 2003" u bazi podataka SoyBase, koja pruža informacije o pozicijama QTL-ova koje su dobijene analizom različitih biparentalnih populacija (Song i sar., 2004; SoyBase, 2015). Nakon ovoga je

primenjen i drugi kriterijum, kada je posmatrana isključivo lokalizacija kandidat lokusa u okviru mapirajućih intervala poznatih QTL-ova.

Na osnovu genomske pozicije kandidat lokusa za pozitivnu selekciju i baze podataka SoyBase, obavljeno je i pretraživanje gena koji se nalaze u intervalu ukupne širine 200 kbp, sa mikrosatelitskim lokusom u središtu posmatranog intervala (SoyBase, 2015). Korišćena fizička mapa se zasniva na poslednjoj objavljenoj verziji asembliranja i anotacije sekvence genoma sorte Williams 82 (Glyma.Wm82.a2, Gmax2.0) (Schmutz i sar., 2010). Nakon identifikacije potencijalnih genskih modela, pristupilo se njihovoj funkcionalnoj anotaciji na osnovu informacija sadržanih u bazama podataka SoyBase i SoyKB: Soybean Knowledge Base (Joshi i sar., 2014). Ovom prilikom su određeni i domeni ontologije gena (eng. *gene ontology*, GO) za biološke procese i molekularne funkcije koje njihovi produkti obavljaju, kao i deo ćelije u kojima se aktivnost odvija. Za analiziranje genetičkih modela korišćen je GO Term Enrichment Tool u bazi podataka SoyBase (Morales i sar., 2013; SoyBase, 2015). Analiza profila genske ekspresije identifikovanih potencijalnih gena obavljena je pomoću RNA Seq Atlas-a u SoyBase (Severin i sar., 2010; SoyBase, 2015).

6. REZULTATI

Istraživanje je obuhvatilo elitnu populaciju, koja je bila sačinjena od sorti soje koje se gaje ili su se gajile na prostorima centralne i istočne Evrope, i predačku populaciju koju su činili genotipovi koji su vodili poreklo uglavom sa prostora Severne Amerike, dok je manji deo poticao iz Evrope. Pažljivim odabirom 28 predačkih genotipova je obuhvaćeno ukupno 85,9% pedigrea elitne populacije, od čega je 15 genotipova obuhvatilo 80% pedigrea (Slika 2). Dužina vegetacije genotipova predačke populacije je bila šireg opsega u odnosu na elitnu, obuhvatajući grupe zrenja od veoma ranih (000) do veoma kasnih sorti VII grupe zrenja (Tabela 2).

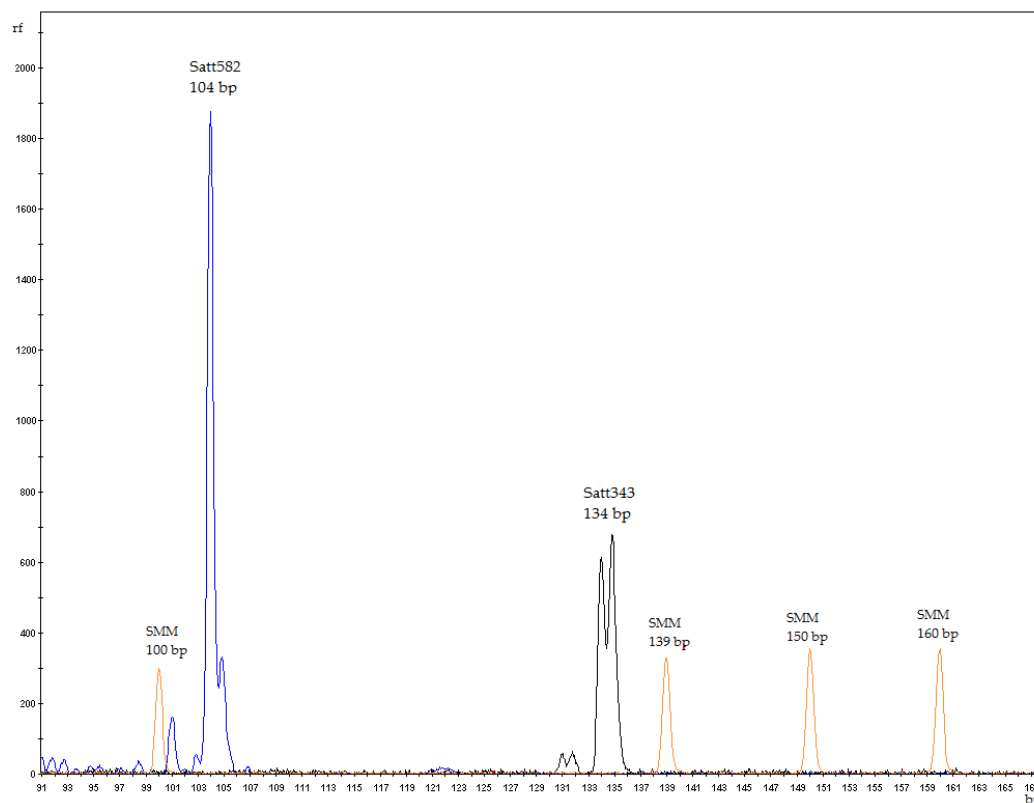


Slika 2. Prosečan udeo doprinosa predačkih genotipova (%) pedigreima elitne populacije

6.1. GENETIČKA VARIJABILNOST POPULACIJA SOJE

Nivo genetičkog diverziteta predačke i elitne populacije soje je određen analizom polimorfnosti 68 mikrosatelitskih lokusa. Ispitivani molekularni markeri su bili raspoređeni na svakom od 20 hromozoma soje, od jednog do sedam markera po hromozomu. Genotipizacija je obavljena neposredno iz elektroforegrama, očitavanjem veličine alela (bp), koja se kretala od 88 do 318 bp (Slika 3).

Analizirani molekularni markeri su amplifikovani sa visokim procentom uspešnosti reakcije. Kod 61 lokusa amplifikacija je bila u potpunosti (100%) efikasna u okviru ispitivanih genotipova, kod četiri mikrosatelita uspešnost je bila 98,8%, dok je najniža uspešnost koja je iznosila 95,1% uočena kod lokusa Satt435.



Slika 3. Elektroforegram mikrosatelita Satt582 i Satt343 za genotip Šapčanka iz elitne populacije (SMM-standard molekulske mase; rf-relativna fluorescencija, bp-bazni parovi)

Parametri genetičke varijabilnosti su izračunati posebno za predačku i elitnu populaciju soje, za svaki pojedinačni lokus (Tabela 3). Svi analizirani lokusi su bili polimorfni. Prilikom analize 68 mikrosatelitskih markera, u uzorku od 28 predačkih genotipova soje uočeno je 342 različita alela, dok je elitna populacija koja se sastojala od 54 genotipa brojala ukupno 279 alela. Prosečan broj alela po lokusu je u predačkoj populaciji iznosio 5,03, dok je u elitnoj populaciji bio 4,10. U predačkoj populaciji se broj alela po lokusu kretao u opsegu od dva do deset (Tabela 3), dok se kod elitnih genotipova moglo uočiti od dva do 11 alela po lokusu. Najveći broj alela se nalazio u lokusu Satt263, u elitnoj populaciji. Frekvencije alela analiziranih mikrosatelitskih markera u predačkoj i elitnoj populaciji su prikazane u Prilogu: Tabela 3.

Uzevši u obzir da broj alela zavisi od veličine uzorka i da je analizirano približno dva puta više elitnih genotipova, izračunati su dodatni parametri “*allelic richness*” (R_s) i efektivan broj alela po lokusu (N_e), koji ne zavise od veličine uzorka.

Parametar R_s je za predačku i elitnu populaciju (Tabela 3) imao slične vrednosti kao broj alela po lokusu (N_a). Kod predačkih genotipova je R_s imao vrednosti od 2 do 9,86 (Satt521) alela po lokusu, a u elitnoj populaciji se kretao od 1,92 za lokus Satt331 do 9,11 (Satt263). Prosečna vrednost R_s je u predačkoj populaciji soje iznosila 5, a u elitnoj populaciji 3,73 alela po lokusu.

Vrednosti drugog parametra koji ne zavisi od veličine uzorka, efektivan broj alela po lokusu (N_e), su bile skoro duplo niže u odnosu na uočene vrednosti za broj alela po lokusu i “*allelic richness*”. Ovaj parametar se kod predačkih genotipova soje kretao u opsegu od 1,34 (Satt582) do 5,83 kod lokusa Satt596, pri čemu je srednja vrednosti iznosila 3,08 efektivnih alela po lokusu. U elitnoj populaciji je najniža vrednost uočena u lokusu Satt331 (1,08), a najviša u lokusu Satt263 (4,20), a prosečna vrednost N_e je iznosila 2,15 efektivnih alela po lokusu.

U predačkoj populaciji je generalno uočen veći broj jedinstvenih (eng. *private*) alela (N_p) u odnosu na elitnu (Slika 4). Kod predačkih genotipova je detektovano ukupno 107, a kod elitnih 44 jedinstvena alela. Jedinstveni aleli su bili prisutni kod svih genotipova predačke populacije, dok kod 12 genotipova elitne populacije (22%) ovi aleli nisu uočeni. Najveći broj jedinstvenih alela u predačkoj populaciji se nalazio kod genotipova Manitoba Brown i CNS, koji su imali 18 ovakvih alela (Slika 4). U elitnoj populaciji je najveći broj jedinstvenih alela imao genotip Gracia (5), dok su po 4 jedinstvena alela uočena kod genotipova Fortuna, NS Optimus i Aleksandra. Frekvencije jedinstvenih alela u predačkoj populaciji su se kretale od 0,018 do 0,250 za lokuse Satt259 i Satt556. Kod elitne populacije je najniža vrednost frekvencije jedinstvenih alela bila 0,009, a najviša vrednost je iznosila 0,380 i bila je uočena u lokusu Satt338 (Prilog: Tabela 3).

Tabela 3. Parametri genetičke varijabilnosti SSR lokusa u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Na		Ne		Rs		He		PIC	
			P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
1	50,16	Satt321	5	3	3,42	2,33	4,98	3,00	0,720	0,577	0,651	0,483
	55,22	Satt295	5	4	1,52	2,47	4,98	3,85	0,350	0,600	0,330	0,511
	56,57	Satt383	4	4	3,19	2,45	4,00	4,00	0,699	0,597	0,629	0,550
	64,51	Satt507	4	5	2,15	3,09	3,89	4,43	0,544	0,683	0,461	0,612
	108,88	Satt147	5	5	3,50	2,02	5,00	4,59	0,727	0,511	0,667	0,452
2	43,91	Satt558	4	3	2,61	2,30	3,99	3,00	0,629	0,571	0,541	0,499
	79,41	Satt644	2	2	1,69	1,18	2,00	2,00	0,416	0,154	0,325	0,141
3	36,86	Sat_084	7	3	3,70	2,07	6,97	2,71	0,743	0,523	0,693	0,402
	65,45	Satt521	10	9	5,56	2,91	9,86	7,10	0,835	0,662	0,799	0,614
	84,59	Satt234	2	2	1,51	1,97	2,00	2,00	0,343	0,496	0,280	0,371
4	10,34	SOYGPATR	3	3	2,05	1,94	3,00	2,71	0,522	0,489	0,450	0,384
	73,32	Satt190	6	6	3,23	2,77	5,87	4,64	0,703	0,646	0,634	0,579
	123,79	Satt338	5	5	3,75	3,50	4,89	4,94	0,747	0,721	0,688	0,664
5	32,68	Satt155	4	4	2,43	2,58	3,99	3,71	0,600	0,618	0,532	0,550
	64,73	Satt385	6	5	4,32	3,10	5,99	4,56	0,782	0,684	0,731	0,615
	88,58	Satt174	4	4	1,76	2,31	3,99	3,92	0,440	0,573	0,397	0,503
	94,19	Satt511	5	5	4,12	3,64	4,99	4,46	0,771	0,732	0,715	0,676
	95,95	Satt211	3	4	1,79	2,01	2,99	3,43	0,450	0,507	0,371	0,409
6	26,65	Satt227	2	2	1,51	1,20	2,00	2,00	0,343	0,170	0,280	0,154
	44,66	Satt422	5	7	2,80	2,32	4,99	5,78	0,654	0,574	0,591	0,501
	112,19	Satt557	3	3	2,33	1,12	3,00	2,64	0,582	0,107	0,501	0,103

Tabela 3 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Na		Ne		Rs		He		PIC	
			P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
6	113,42	Satt319	3	3	1,74	1,80	3,00	2,92	0,432	0,448	0,381	0,373
	117,76	Satt460	4	2	2,61	1,36	3,99	2,00	0,629	0,268	0,558	0,230
	128,22	Satt433	5	3	3,08	2,33	5,00	3,00	0,689	0,576	0,618	0,497
	151,91	Satt357	7	4	3,14	1,10	6,97	2,89	0,694	0,091	0,639	0,088
7	18,58	Satt150	3	4	1,39	1,12	2,99	3,14	0,284	0,108	0,255	0,105
	33,47	Satt567	3	4	2,43	1,70	3,00	3,67	0,600	0,415	0,514	0,367
	38,93	Satt435	8	5	4,13	1,50	8,00	4,40	0,773	0,335	0,725	0,312
	66,98	Satt175	6	6	4,22	3,00	5,99	5,42	0,777	0,673	0,727	0,616
	112,79	Satt346	5	4	2,50	1,55	4,99	3,64	0,611	0,357	0,562	0,321
	133,83	Satt336	5	2	2,84	1,43	4,98	2,00	0,660	0,305	0,582	0,256
8	162,03	Satt429	6	5	3,62	2,21	5,99	4,70	0,737	0,552	0,689	0,510
	14,35	Satt242	8	3	3,63	2,24	7,77	3,00	0,738	0,558	0,691	0,489
9	43,34	Satt544	6	6	4,74	3,22	6,00	4,89	0,803	0,696	0,760	0,628
	52,88	Satt240	4	4	3,17	1,99	4,00	3,92	0,697	0,503	0,635	0,457
10	9,53	Satt487	5	6	4,85	3,84	5,00	5,66	0,808	0,747	0,761	0,694
	39,82	Satt259	5	3	3,29	2,00	4,99	2,71	0,708	0,506	0,644	0,393
	55,81	Satt576	10	5	4,39	2,80	9,66	4,64	0,786	0,649	0,750	0,588
	93,37	Satt331	2	2	1,42	1,08	2,00	1,92	0,299	0,072	0,250	0,069
11	100,37	Satt592	3	3	2,26	2,03	3,00	2,96	0,568	0,512	0,463	0,417
	119,5	Satt243	5	4	3,09	3,20	4,99	3,99	0,689	0,694	0,623	0,629
	46,38	Satt197	6	4	3,53	1,67	5,98	3,67	0,730	0,404	0,675	0,359
	84,19	Satt583	9	3	5,41	1,47	8,98	3,00	0,830	0,322	0,795	0,296

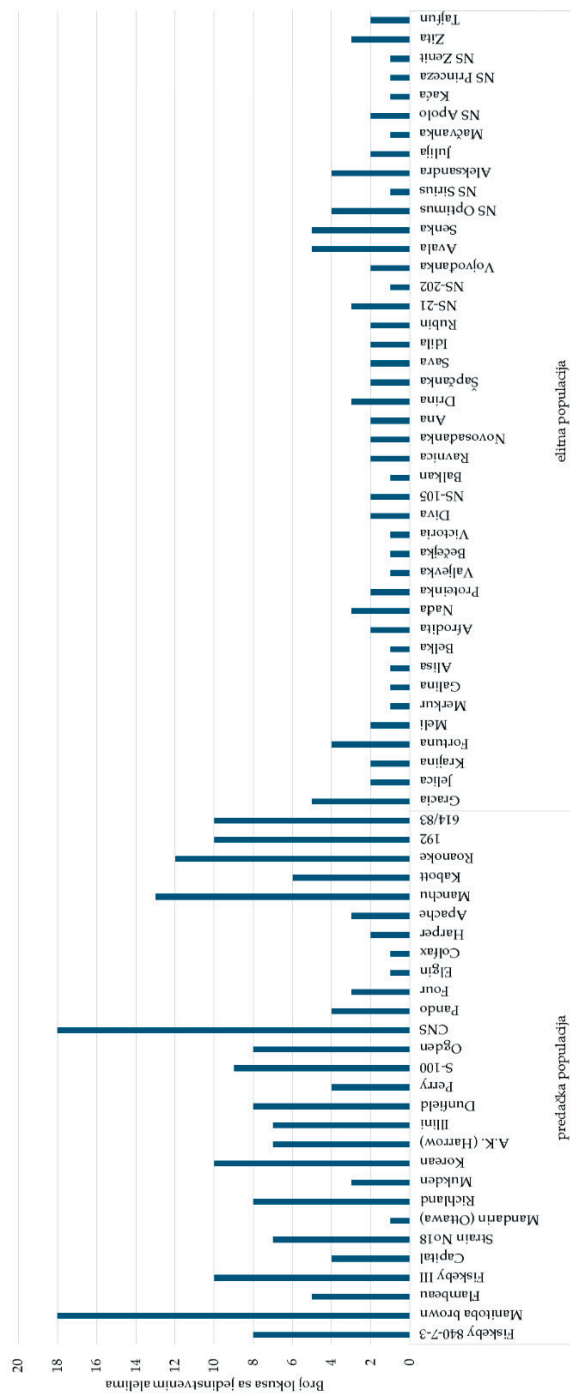
Tabela 3 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Na		Ne		Rs		He		PIC	
			P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
12	91,12	Satt181	5	5	3,19	2,47	4,99	4,18	0,699	0,600	0,633	0,537
			8	5	5,54	2,15	7,98	4,59	0,834	0,539	0,797	0,471
13	78,05	Satt334	5	4	3,42	1,49	4,99	3,64	0,720	0,333	0,657	0,303
			3	2	1,54	1,14	2,99	1,99	0,356	0,122	0,308	0,114
14	73,2	Satt556	6	3	3,38	2,59	5,97	3,00	0,717	0,619	0,656	0,532
			8	8	4,26	2,68	7,97	7,03	0,779	0,633	0,737	0,597
15	12,92	Satt411	3	3	1,87	1,70	3,00	3,00	0,473	0,416	0,415	0,375
			2	3	1,42	1,21	2,00	2,90	0,299	0,174	0,250	0,165
			4	4	3,09	1,80	3,99	3,69	0,689	0,447	0,612	0,393
			10	11	5,79	4,20	9,78	9,11	0,842	0,769	0,809	0,727
16	39,63	Satt596	7	5	5,83	3,61	7,00	4,71	0,844	0,730	0,806	0,678
			3	3	1,34	1,70	2,99	3,00	0,257	0,417	0,234	0,371
17	79,23	Satt389	5	6	4,25	2,23	5,00	4,95	0,779	0,557	0,727	0,478
			4	3	1,91	1,32	3,99	2,71	0,485	0,246	0,438	0,222
18	12,54	Satt688	3	2	1,91	1,50	2,96	2,00	0,486	0,338	0,380	0,279
			5	3	1,78	2,01	4,88	2,46	0,447	0,507	0,413	0,385
			4	3	1,45	1,61	3,98	3,00	0,317	0,383	0,292	0,343
			3	3	1,81	2,04	3,00	2,46	0,457	0,513	0,406	0,388
19	30,58	Satt398	4	2	2,00	1,50	3,99	2,00	0,509	0,338	0,432	0,279
			8	5	4,47	2,65	7,98	4,65	0,790	0,628	0,749	0,552

Tabela 3 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Na		Ne		Rs		He		PIC	
			P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
19	106,37	Satt513	4	4	2,34	1,58	4,00	3,45	0,584	0,372	0,506	0,337
	107,23	Satt373	9	6	4,88	1,80	8,97	5,68	0,810	0,449	0,774	0,423
20	36,94	Satt239	6	5	4,20	2,82	5,98	4,18	0,776	0,651	0,723	0,575
	112,7	Satt440	6	4	3,99	2,27	5,99	3,90	0,763	0,564	0,712	0,480
Prosečna vrednost			5,03	4,1	3,08	2,15	5	3,73	0,626	0,483	0,569	0,426

Na – broj alela po lokusu; Ne – efektivan broj alela po lokusu; Rs – “allelic richness”; He - očekivana heterozigotnost; PIC – indeks polimorfnosti



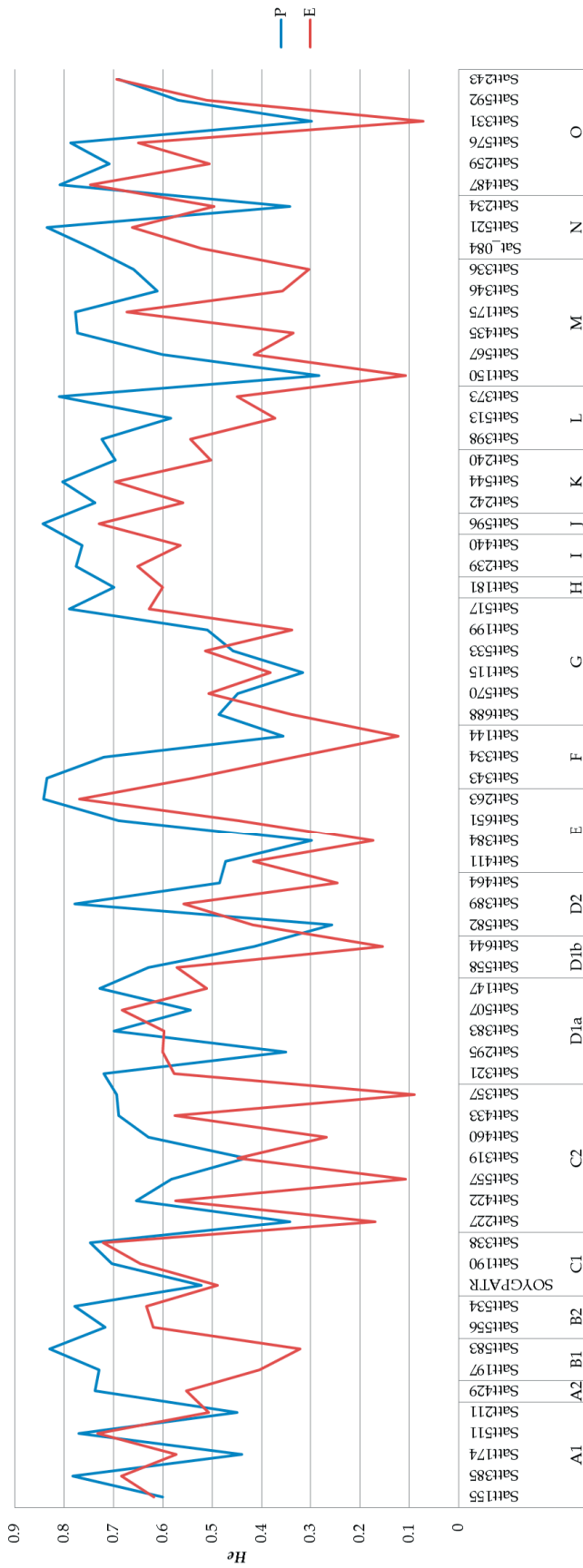
Slika 4. Histogram broja lokusa sa jedinstvenim alelima (Na) u genotipovima predačke i elitne populacije soje

Indeks polimorfnosti (*PIC*), kao mera informativnosti molekularnih markera, je pokazao da je mikrosatelitski lokus Satt263 bio najpogodniji za analizu genetičke varijabilnosti genotipova, kako predačke (0,809) tako i elitne populacije (0,727), što je u saglasnosti sa činjenicom da je kod ovog lokusa detektovan najveći broj alela. Marker Satt582 se pokazao kao najmanje informativan za predačku populaciju (0,234). Kada su posmatrane vrednosti indeksa polimorfnosti u elitnoj populaciji, uočeno je da je za ispitivanje diverziteta najmanje pogodan bio marker Satt331 (0,069). Prosečna vrednost *PIC* parametra je iznosila 0,569 u predačkoj i 0,426 u elitnoj populaciji (Tabela 3).

Vrednosti očekivane heterozigotnosti (*He*) pojedinačnih lokusa su bile prilično heterogene u analiziranim populacijama soje. Kod predačkih genotipova je najmanja vrednost iznosila 0,257 za lokus Satt582, a najveća 0,844 za lokus Satt596, dok su vrednosti ovog parametra u elitnoj populaciji bile niže, krećući se u opsegu od 0,072 za lokus Satt331 do 0,769 za lokus Satt263 (Tabela 3). U elitnoj populaciji je kod 82,3% analiziranih lokusa uočeno smanjenje očekivane heterozigotnosti, kao mere genetičkog diverziteta, u poređenju sa predačkom populacijom (Slika 5). Prosečna vrednost očekivane heterozigotnosti je kod ispitivanih genotipova predačke populacije iznosila 0,63, dok je u elitnoj populaciji imala nižu vrednost (0,48) (Tabela 3).

Poredeći prosečne vrednosti parametara genetičkog diverziteta u populacijama soje, uočava se smanjenje varijabilnosti u elitnoj populaciji (Tabela 3). Naime, zapaženo je da su svi analizirani parametri uključujući indeks polimorfnosti, prosečan broj alela po lokusu, parametar "*allelic richness*", efektivan broj alela, prosečan broj jedinstvenih alela i očekivana heterozigotnost imali veće srednje vrednosti u predačkoj u odnosu na elitnu populaciju (Tabela 3).

Kako bi se utvrdilo da li su razlike u prosečnim vrednostima parametara genetičkog diverziteta (*Na*, *Ne*, *Rs*, *He* i *PIC*) različite između populacija soje primenjen je neparametrijski Mann-Whitney test. Rezultati ovog testa su pokazali da je razlika između predačke i elitne populacije soje bila statistički značajna za sve parametre genetičke varijabilnosti, na nivou značajnosti $p < 0,01$ (Tabela 4).



Slika 5. Vrednosti očekivane heterozigotnosti (He) po lokusima u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje

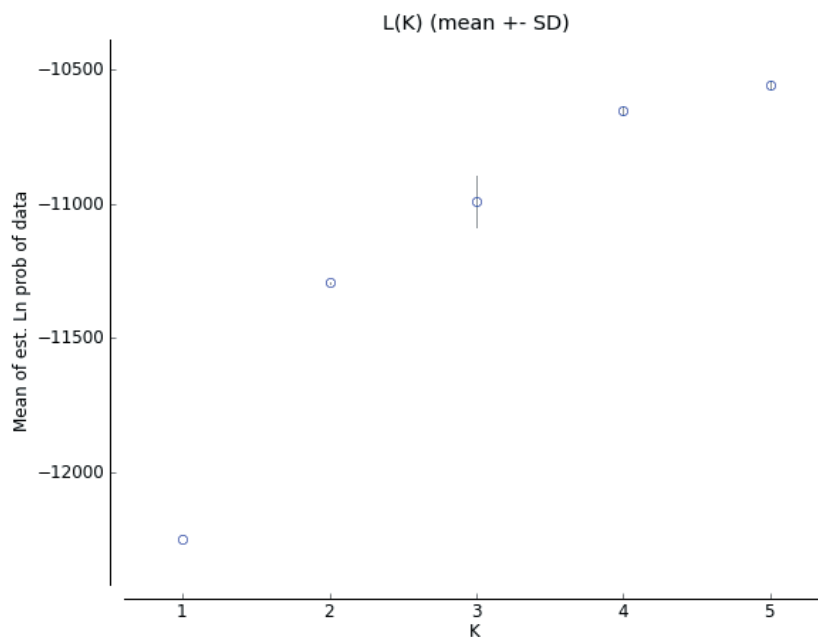
Tabela 4. Prosečne vrednosti parametara genetičkog diverziteta u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje

Parametar	N_a		N_e		R_s		He		PIC	
	P	E	P	E	P	E	P	E	P	E
Minimalna vrednost	2	2	1,34	1,08	2,00	1,92	0,257	0,072	0,234	0,069
Maksimalna vrednost	10	11	5,83	4,20	9,86	9,11	0,844	0,769	0,809	0,727
Srednja vrednost	5,03	4,10	3,08	2,15	5,00	3,73	0,626	0,483	0,569	0,426
Standardna devijacija	2,04	1,68	1,24	0,73	2,00	1,35	0,168	0,181	0,170	0,165
p -vrednost	0,004		<0,0001		<0,0001		<0,0001		<0,0001	

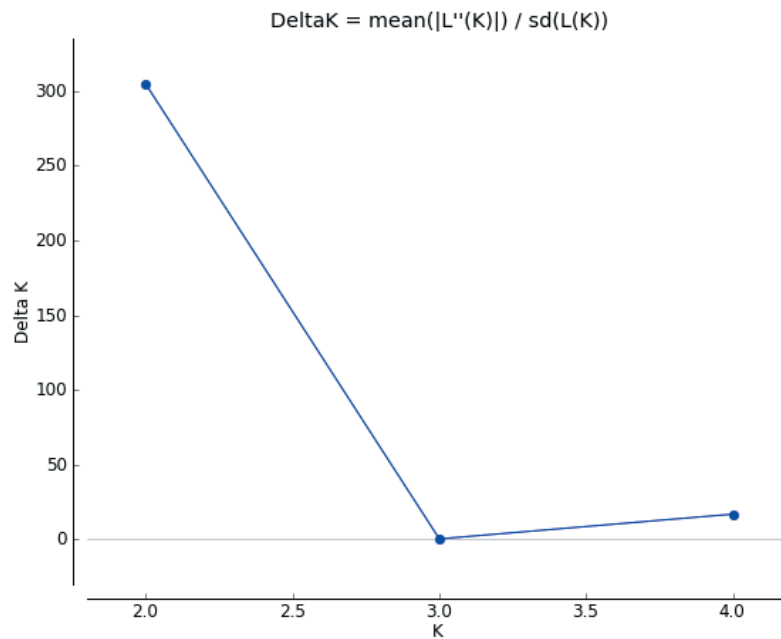
N_a —broj alela; N_e —efektivan broj alela; R_s —allelic richness; He —očekivana heterozigotnost; PIC —indeks polimorfnosti

6.2. GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJA SOJE

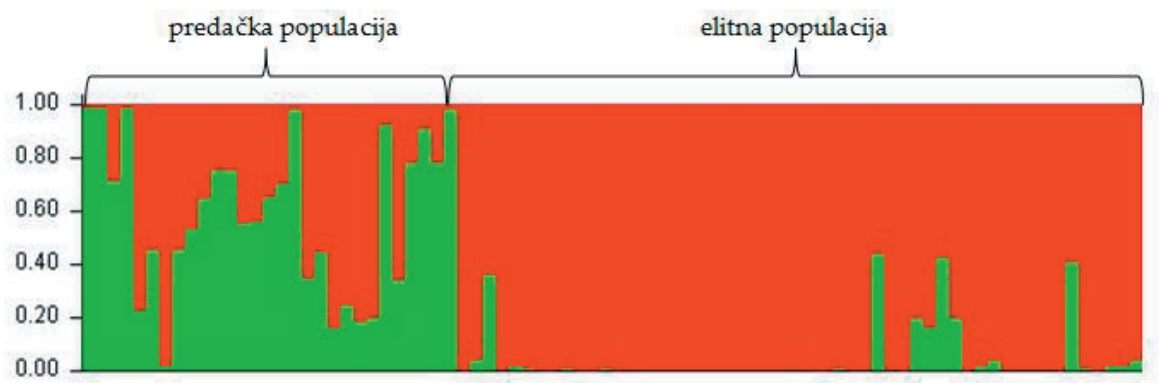
Optimalan broj genetičkih klastera (K) je određen na osnovu metode koju su predložili Pritchard i sar. (2000). Kako je sa povećanjem hipotetičke vrednosti K uočen neprekidan porast logaritamske distribucije $L(K)$, ovaj metod nije jasno ukazivao na broj genetičkih klastera (Slika 6). Stoga je primenjen ΔK pristup (Evanno i sar., 2005) koji je ukazao na jasnu struktuiranost analiziranog uzorka soje, na osnovu koje su utvrđena dva genetička klastera ($K=2$) (Slika 7). Odnosno, svi analizirani genotipovi soje su bili podeljeni u dve genetički različite grupe, pri čemu je najveći broj genotipova predačke populacije pripadao jednom klasteru, dok je većina elitnih genotipova pripadala drugom (Slika 8).



Slika 6. Određivanje optimalne K vrednosti prema $L(K)$ vrednostima primenjen na analiziranim genotipovima soje, metod po Pritchard i sar. (2000)



Slika 7. Određivanje najverovatnijeg broja genetičkih klastera primenom ΔK metode (Evano i sar., 2005)

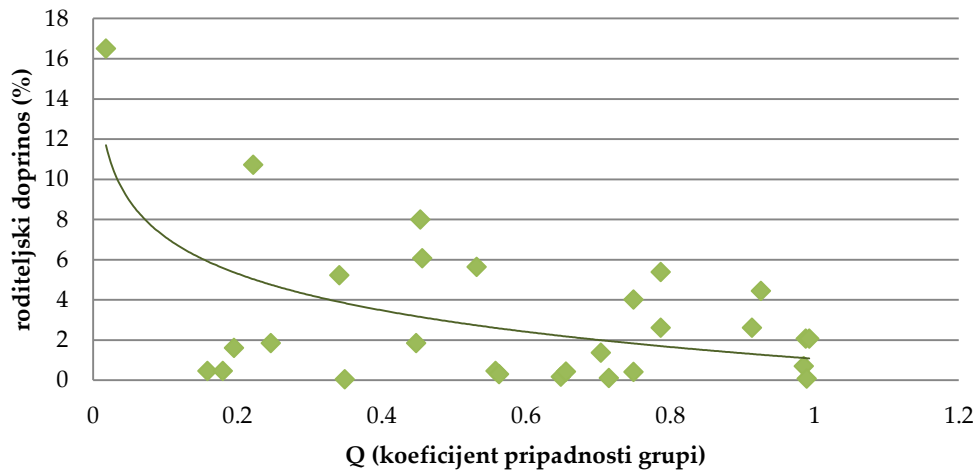


Slika 8. Grafički prikaz genetičke strukture pređačke i elitne populacije soje ($K=2$, udeo zelene ili crvene boje predstavlja pripadnost genotipa određenom klasteru)

Uočeno je da su pojedini genotipovi koji su prema pedigreu pripadali pređačkoj populaciji, na osnovu analize genetičke strukture populacija bili pridruženi klasteru koji je najvećim delom bio sačinjen od elitnih genotipova. Jedino je genotip Gracia koji je deo elitne populacije bio svrstan u klaster pređačkih sorti. Kada je posmatrana zavisnost između koeficijenta pripadnosti pređačkih genotipova određenom klasteru (Q) i prosečnog udela

predačkih genotipova u pedigreima elitnih sorti (Slika 2), uočena je pozitivna korelacija ($r=0,38$; $p<0,05$) (Slika 9).

Uzevši u obzir navedenu zavisnost, kao i činjenicu da su genetička struktura populacija i pedigre pokazali veoma slične rezultate, naredne analize su obavljene na osnovu početne podele genotipova na predačku i elitnu populaciju, prema pedigreu.



Slika 9. Zavisnost koeficijenta pripadnosti predačkih genotipova određenoj grupi (Q) i prosečnog udela predačkih genotipova u pedigreima elitnih sorti (%)

6.3. GENETIČKA DIFERENCIJACIJA POPULACIJA SOJE

6.3.1. GENETIČKA DIFERENCIJACIJA POPULACIJA NA OSNOVU *Fst* PARAMETRA

U cilju određivanja stepena populaciono-genetičke diferencijacije analizirane su vrednosti indeksa fiksacije, *Fst* (Tabela 5).

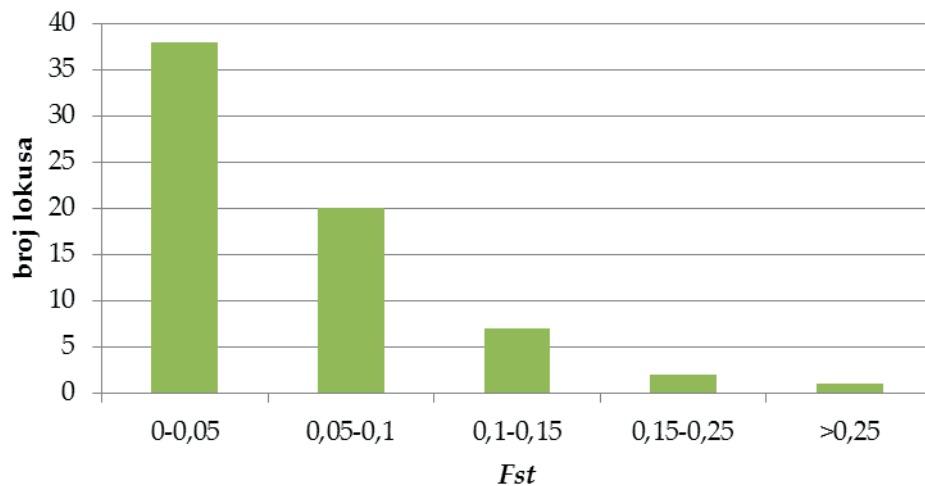
Tabela 5. Vrednosti indeksa fiksacije (*Fst*) za pojedinačne lokuse između analiziranih populacija soje

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	<i>Fst</i>
1	50,16	Satt321	0,038
	55,22	Satt295	0,155
	56,57	Satt383	0,081
	64,51	Satt507	0,058
	108,88	Satt147	0,061
2	43,91	Satt558	0,040
	79,41	Satt644	0,068
3	36,86	Sat_084	0,055
	65,45	Satt521	0,028
	84,59	Satt234	0,129
4	10,34	SOYGPATR	0,012
	73,32	Satt190	0,057
	123,79	Satt338	0,094
5	32,68	Satt155	0,005
	64,73	Satt385	0,010
	88,58	Satt174	0,019
	94,19	Satt511	0,023
	95,95	Satt211	0,112
6	26,65	Satt227	0,029
	44,66	Satt422	0,010
	112,19	Satt557	0,141
	113,42	Satt319	0,030
	117,76	Satt460	0,072
	128,22	Satt433	0,068
7	151,91	Satt357	0,162
	18,58	Satt150	0,031
	33,47	Satt567	0,131
	38,93	Satt435	0,103
	66,98	Satt175	0,031
	112,79	Satt346	0,034
	133,83	Satt336	0,098

Tabela 5 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	<i>Fst</i>
8	162,03	Satt429	0,043
9	14,35	Satt242	0,095
	43,34	Satt544	0,061
	52,88	Satt240	0,032
10	9,53	Satt487	0,022
	39,82	Satt259	0,046
	55,81	Satt576	0,019
	93,37	Satt331	0,052
	100,37	Satt592	0,007
	119,50	Satt243	0,027
11	46,38	Satt197	0,061
	84,19	Satt583	0,103
12	91,12	Satt181	0,012
13	3,04	Satt343	0,053
	78,05	Satt334	0,092
	102,08	Satt144	0,037
14	73,20	Satt556	0,049
	87,58	Satt534	0,030
15	12,92	Satt411	0,004
	19,29	Satt384	0,032
	32,09	Satt651	0,128
	45,40	Satt263	0,016
16	39,63	Satt596	0,028
17	53,84	Satt582	0,025
	79,23	Satt389	0,044
	89,75	Satt464	0,367
18	12,54	Satt688	0,025
	12,74	Satt570	0,075
	43,77	Satt115	0,006
	56,52	Satt533	0,084
	62,16	Satt199	0,016
	69,87	Satt517	0,017
19	30,58	Satt398	0,041
	106,37	Satt513	0,037
	107,23	Satt373	0,066
20	36,94	Satt239	0,017
	112,70	Satt440	0,096
Prosečna vrednost			0,058

Uočene F_{st} vrednosti između predačke i elitne populacije za pojedinačne mikrosatelitske lokuse, su bile veoma raznolike i krele su se u intervalu od 0,004 (Satt411) do 0,367 (Satt464) (Tabela 5). Prosečna vrednost F_{st} parametra između predačke i elitne populacije je iznosila 0,058 ukazujući na nizak do srednji nivo populaciono-genetičke diferencijacije (Wright, 1978).



Slika 10. Distribucija F_{st} vrednosti između predačke i elitne populacije soje

Na osnovu F_{st} vrednosti, kod najvećeg broja lokusa (56%), uočena je slaba diferencijacija između populacija (0-0,05) (Slika 10). Kod oko 40% lokusa F_{st} vrednost se kretala u opsegu od 0,05-0,15, što je ukazivalo na srednji nivo diferencijacije između populacija. Dva mikrosatelitska lokusa, Satt295 i Satt357, su imala F_{st} vrednost veću od 0,15 što je ukazivalo na visoki stepen međupopulacione diferencijacije. Samo je kod lokusa Satt464 uočena veoma visoka diferencijacija između populacija, pri čemu je F_{st} vrednost bila veća od 0,25 (Tabela 5).

6.3.2. ANALIZA MOLEKULARNE VARIJANSE (AMOVA)

Analiza molekularne varijanse (AMOVA) je obavljena združeno za obe populacije, sa ciljem ispitivanja raspodele genetičke varijabilnosti unutar i između populacija. Rezultati analize su pokazali statistički značajnu diferencijaciju između populacija, između genotipova unutar populacija kao i između svih ispitivanih genotipova (Tabela 6). Utvrđeno je da se najveći udeo ukupne genetičke varijabilnosti nalazio unutar ispitivanih populacija (variranje genotipova u okviru populacija 80,91%) ($F_{is}=0,889$). U AMOVA analizi je utvrđen nizak procenat variranja između populacija (8,99%; $F_{st}=0,090$), potvrđujući malu populaciono-genetičku diferencijaciju (Tabela 6).

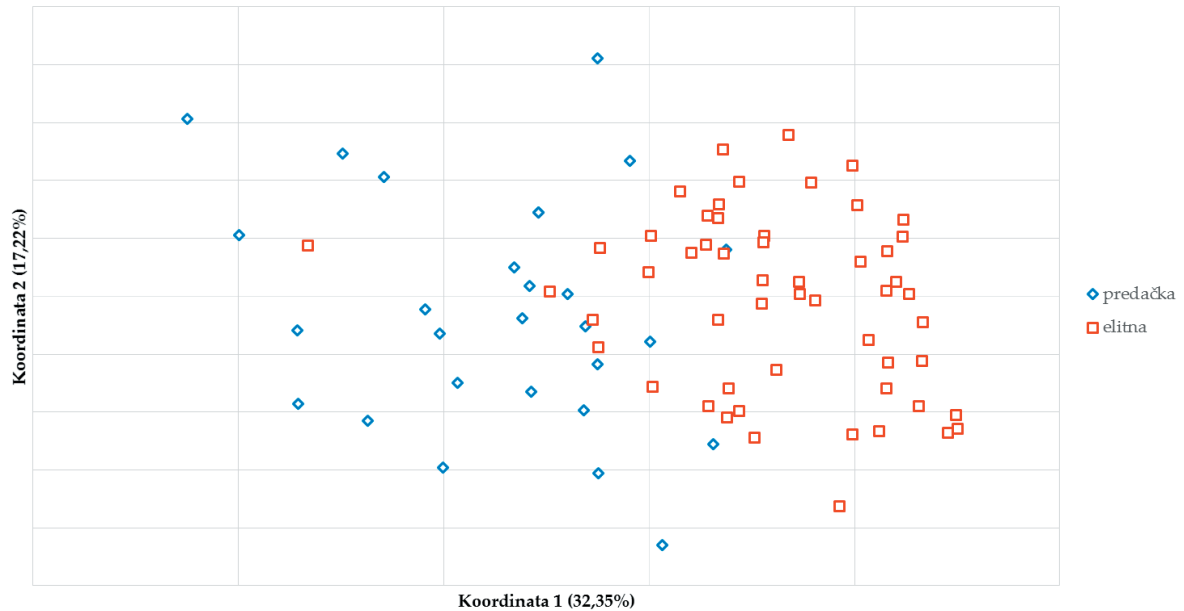
Tabela 6. Rezultati analize AMOVA u predačkoj i elitnoj populaciji soje

Izvor varijacije	Suma kvadrata	Varijabilnost komponenti	Procenat varijabilnosti	<i>p</i> -vrednost
Između populacija	167,32	1,81	8,99	<0,001
Između jedinki unutar populacija	2756,26	16,25	80,91	<0,001
Između svih jedinki	166,00	2,04	10,10	<0,001
Ukupno	3089,58	20,09		

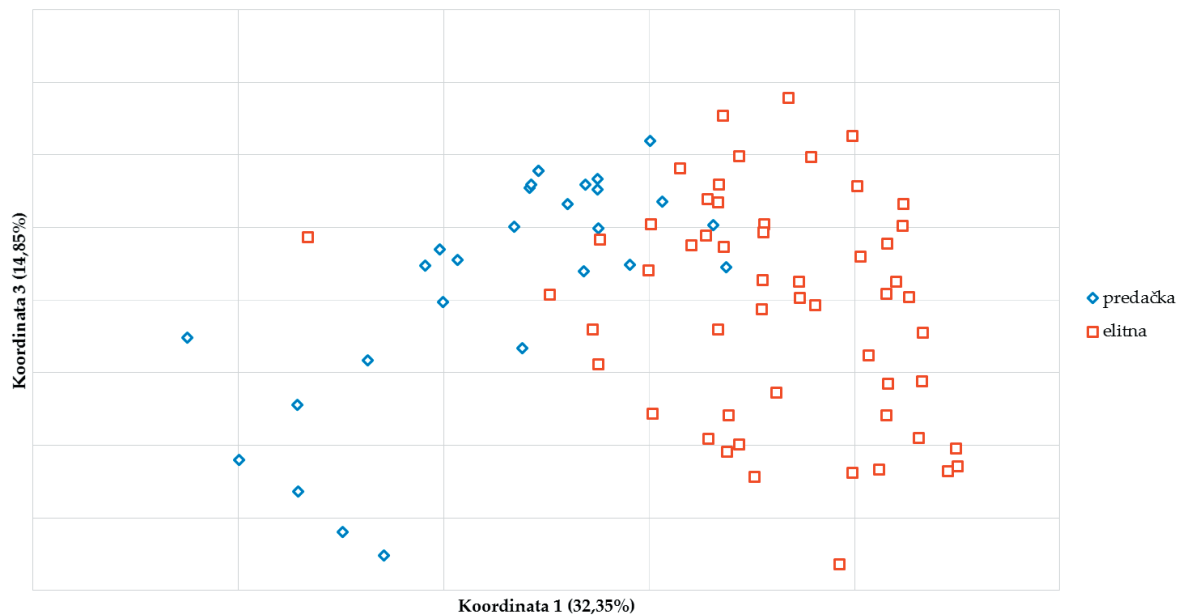
6.3.3. ANALIZA GLAVNIH KOORDINATA (PCoA)

Multivarijacionoj analizi je prethodilo izračunavanje vrednosti Cavalli-Sforza i Edwards (1967) genetičke udaljenosti između parova svih analiziranih genotipova soje, nakon čega je na matricu genetičke udaljenosti primenjena analiza glavnih koordinata, kako bi se uočilo grupisanje genotipova. Analiza glavnih koordinata opisala je varijabilnost pomoću ukupno šest koordinatnih osa (Prilog: Tabele 4 i 5). Prvom osom je objašnjen najveći deo variranja (32,35%) i ona je u najvećoj meri podelila ispitivane populacije, tako da su se s jedne strane ose nalazili uglavnom genotipovi predačke, a sa druge strane genotipovi elitne populacije (Slika 11). Drugom i trećom koordinatnom osom je objašnjeno 17,22%, odnosno 14,85% variranja. PCo analiza predačkih i elitnih genotipova soje je u određenom stepenu međusobno razdvojila analizirane uzorke, ukazujući na postojanje genetičke udaljenosti među ispitivanim populacijama.

Posmatrajući grafičke prikaze analize glavnih koordinata ispitivanih genotipova soje (Slika 11), ne može se uočiti jasno grupisanje analiziranih uzoraka u odvojene klustere, nego je uočeno delimično prelaapanje uzoraka dve populacije.



a)



b)

Slika 11. Analiza glavnih koordinata (PCoA) genotipova predačke i elitne populacije soje na osnovu a) prve i druge i b) prve i treće koordinatne ose

U slučaju prikaza prve i druge ose koordinate, koje zajedno opisuju 49,57% varijacija (Slika 11a), podela analiziranih genotipova prema populacijama nije bila jasna i genotipovi su bili disperzno raspoređeni širom koordinatnog sistema. Pojedini genotipovi predačke populacije (CNS, Mandarin, Colfax) su ispoljili veću genetičku udaljenost u odnosu na sve ostale ispitivane genotipove. U predačkoj populaciji je generalno uočena veća genetička udaljenost između genotipova, dok su genotipovi elitne populacije u najvećoj meri bili međusobno blisko locirani u koordinatnom sistemu, izuzev genotipa Gracia, koji je najviše odstupao od distribucije.

Treća koordinatna osa je u određenoj meri grupisala genotipove predačke populacije, razdvajajući sorte Fiskeby III i Fiskeby 840-7-3, Manitoba Brown, Roanoke, Ogden, CNS i 192 od preostalih genotipova predačke populacije (Slika 11b). U elitnoj populaciji nije uočena jasna podela na osnovu treće ose, a na osnovu grafičkog prikaza prve i treće ose koordinate, takođe nije bila uočena jasna podela između analiziranih populacija.

6.4. IDENTIFIKACIJA LOKUSA NA KOJE JE DELOVALA SELEKCIJA

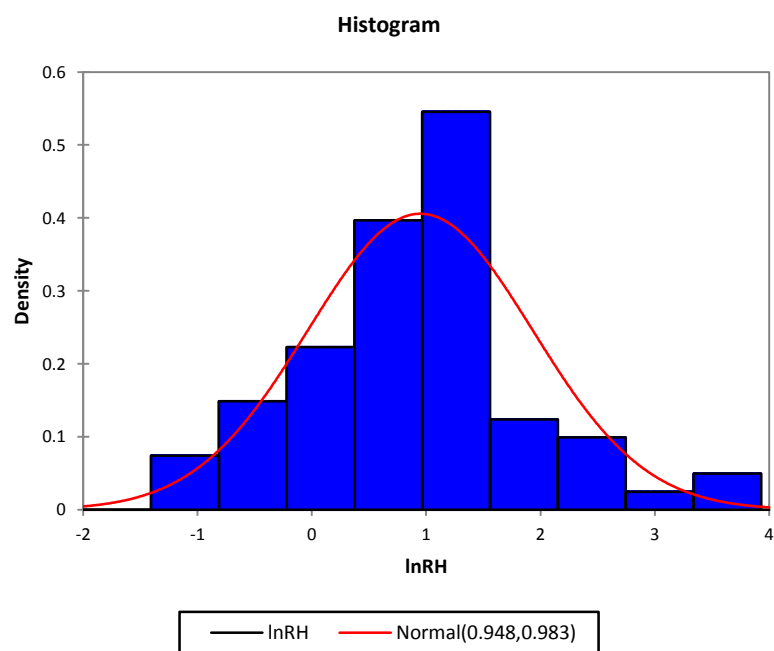
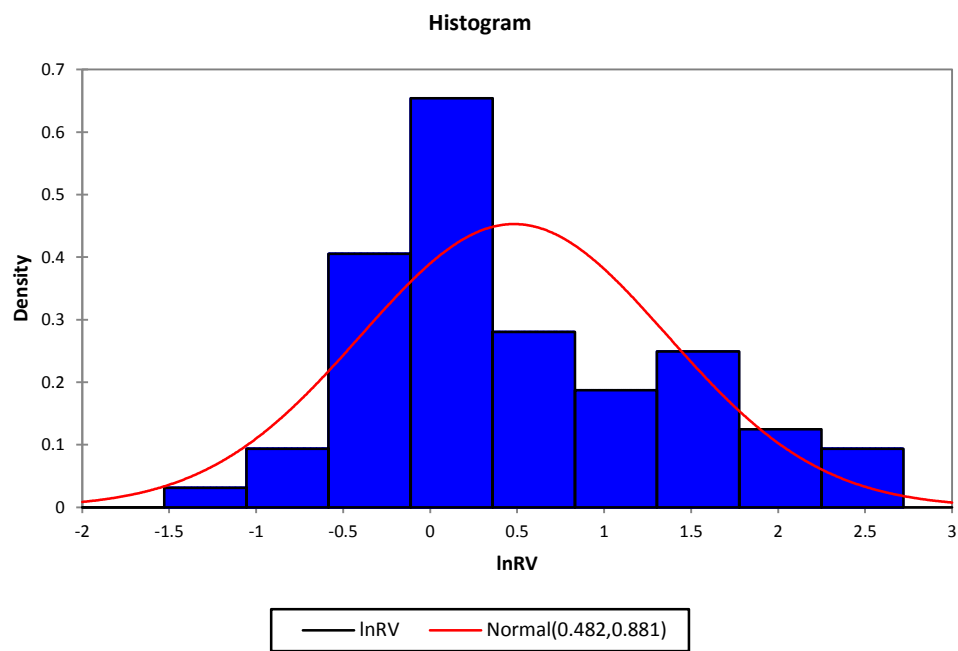
Od ukupnog broja analiziranih mikrosatelitskih markera, delovanje selekcije je uočeno kod ukupno 21 lokusa, pomoću najmanje jednog primenjenog pristupa (lnRH i lnRV testovi, *Fst*, pristupi u programima Lositan i Arlequin koji se zasnivaju na demografskim modelima).

U cilju poređenja varijabilnosti mikrosatelitskih lokusa između predačke i elitne populacije soje, korišćeni su testovi koji su izračunavali logaritamski odnos varijanse broja ponovaka mikrosatelita (lnRV), kao i odnos očekivane heterozigotnosti (lnRH), između ispitivanih populacija. Zatim je za ispitivanje distribucije izračunatih vrednosti primenjen Kolmogorov-Smirnov test, čiji rezultati su prikazani u Tabeli 7. Dobijene *p*-vrednosti ovog testa koje su veće od nivoa značajnosti ($\alpha=0,05$), ukazuju da nestandardizovane vrednosti lnRH i lnRV svih analiziranih lokusa imaju normalnu (Gausovu) raspodelu (Slika 12). Uzevši u obzir da su parametri imali normalnu raspodelu, pretpostavljeno je da je selekcija delovala na manji broj analiziranih lokusa, te je standardizacija lnRV i lnRH vrednosti obavljena na osnovu srednjih vrednosti i standardnih devijacija nestandardizovanih vrednosti svih lokusa (Kauer i sar., 2003; Storz, 2005).

Tabela 7. Analiza distribucije nestandardizovanih lnRV i lnRH vrednosti

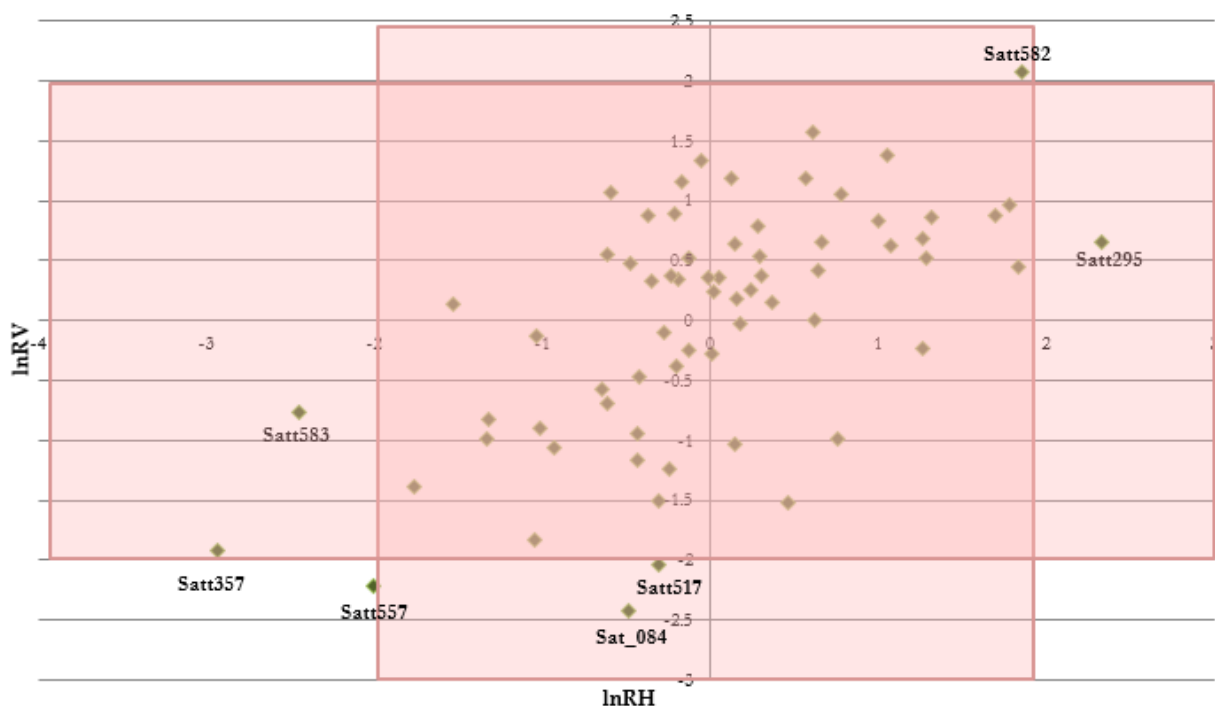
	Minimalna vrednost	Maksimalna vrednsot	Srednja vrednost	Standardna devijacija	<i>D</i>	<i>p</i> -vrednost
lnRV	-1,344	2,620	0,482	0,881	0,128	0,200
lnRH	-1,346	3,832	0,948	0,983	0,099	0,494

D-vrednost Kolmogorov-Smirnov testa



Slika 12. Testiranje distribucije nestandardizovanih a) lnRV i b) lnRH vrednosti primenom Kolmogorov-Smirnov testa (stubićima je predstavljena empirijska, a linijom teorijska raspodela navedenih vrednosti)

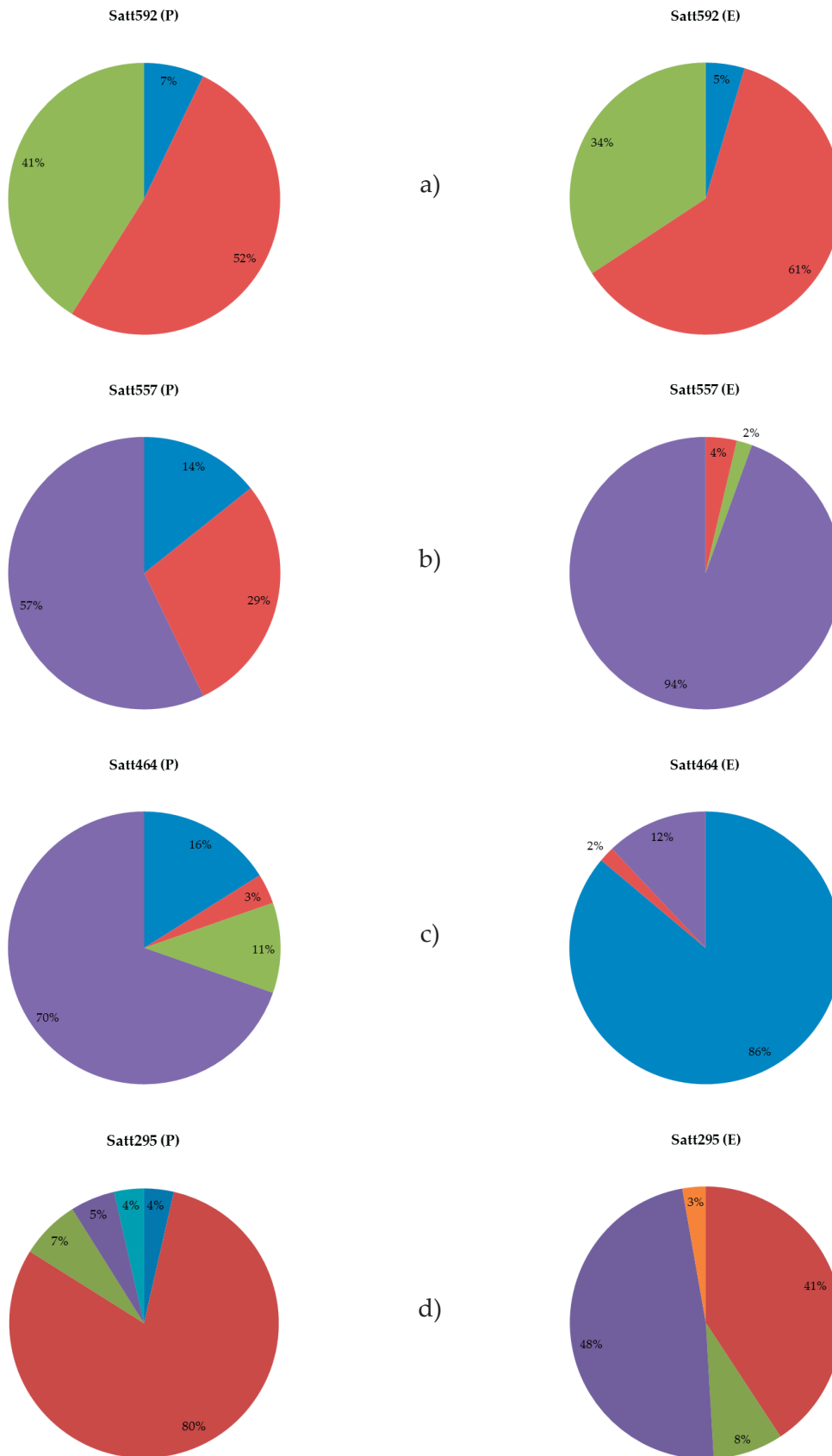
Nakon standardizacije podataka, utvrđeno je da su se četiri (5,88%) lokusa nalazila izvan granice poverenja od 95% prema lnRH testu i četiri lokusa na osnovu lnRV testa (Slika 13). Tri lokusa identifikovana pomoću lnRH (Satt357, Satt557 i Satt583) su imala negativne vrednosti, koje ukazuju na smanjenje varijabilnosti u elitnoj populaciji, te su ovi lokusi predstavljali kandidate na koje je delovala pozitivna selekcija. Lokus Satt295 je usled pozitivne vrednosti logaritma odnosa varijabilnosti predstavljao kandidata za delovanje balansne selekcije. Slično je uočeno i primenom lnRV testa, pri čemu je Satt582 identifikovan kao kandidat lokus za delovanje balansne selekcije, dok su preostala tri lokusa (Sat_084, Satt517 i Satt557) predstavljali kandidate za delovanje pozitivne selekcije. Samo kod lokusa Satt557 je primenom oba testa uočeno statistički značajno smanjenje varijabilnosti u elitnoj populaciji, te je ovaj lokus predstavljao najjačeg kandidata za delovanje pozitivne selekcije.



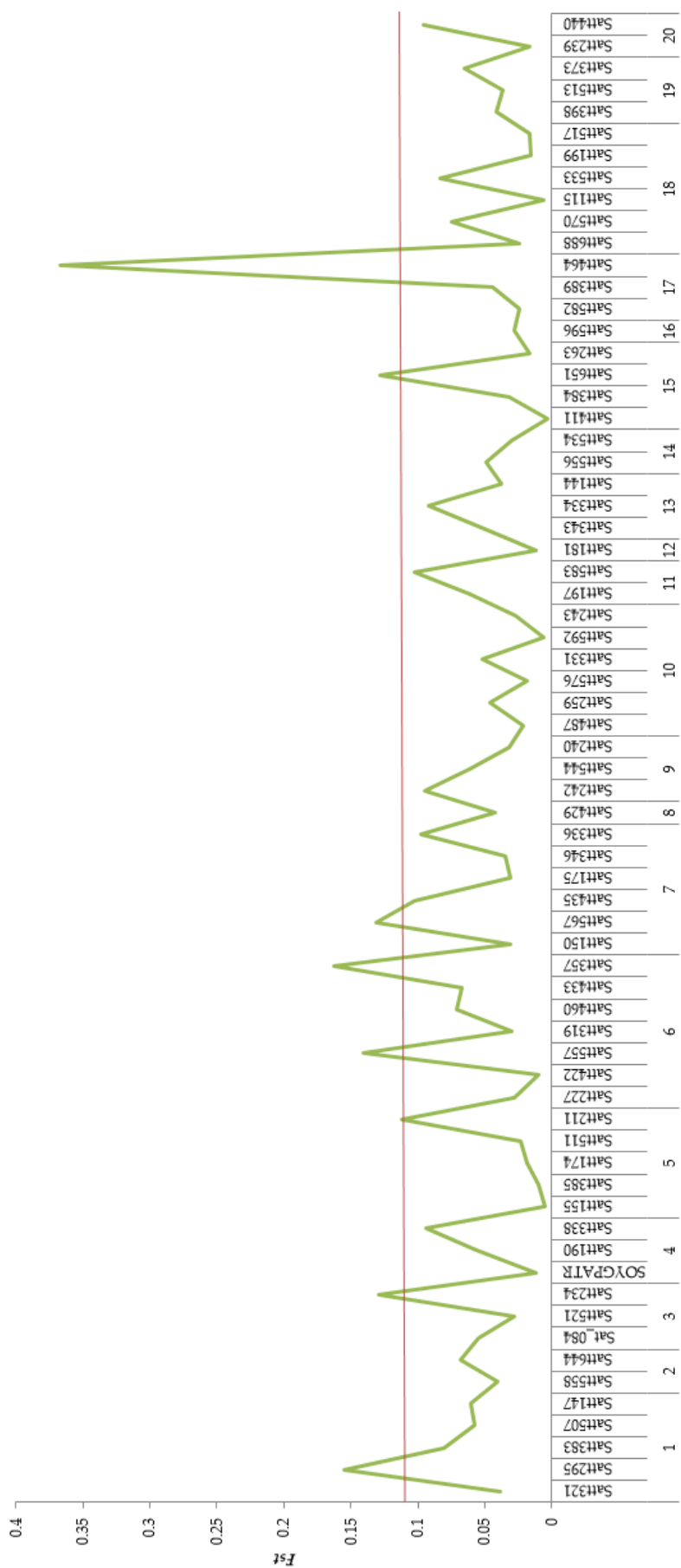
Slika 13. Standardizovane lnRH i lnRV vrednosti (crvena polja predstavljaju intervale poverenja od 95%)

Odnosi frekvencija alela u predačkoj i elitnoj populaciji soje mogu oslikavati različita delovanja selekcije u pojedinim lokusima. Za ilustraciju specifičnih slučajeva delovanja selekcije, na osnovu InRH i InRV testova, odabrana su četiri karakteristična lokusa (Slika 14). Mikrosatelitski lokus Satt592 je na osnovu navedenih pristupa bio selektivno neutralan, na šta ukazuju i frekvencije alela u analiziranim populacijama, koje su zadržale sličan odnos i nakon višegodišnjeg oplemenjivanja soje (Slika 14a). Potom, na lokus Satt557 delovala je pozitivna selekcija, favorizujući najfrekventniji alel predačke populacije (Slika 14b). Osim toga, u elitnoj populaciji je uočena i pojava novog alela, koji je imao nisku frekvenciju. Lokus Satt464 je takođe bio pod uticajem pozitivne selekcije, s tim što je u ovom slučaju favorizovan alel koji u predačkoj populaciji nije bio najfrekventniji, dovodeći ga skoro do fiksacije u elitnoj populaciji (Slika 14c). Delujući na lokus Satt295, selekcija je uticala da alel koji je u predačkoj populaciji bio prisutan u niskoj frekvenciji, višestruko poveća svoju učestalost u elitnoj populaciji, istovremeno smanjujući učestalost najfrekventnijeg alela predačke populacije. Na ovaj način je došlo do skorog izjednačenja vrednosti frekvencija navedenih alela, što je verovatno uticalo da statistički pristup okarakterise selekciju koja je delovala kao balansnu (Slika 14d).

Dok su se prethodni testovi za identifikaciju lokusa koji su bili pod uticajem selekcije zasnivali na smanjenju genetičke varijabilnosti, naredni pristupi su detektovali selektivno značajne lokuse na osnovu vrednosti indeksa fiksacije, odnosno stepena populacione diferencijacije. Srednja *Fst* vrednost svih analiziranih mikrosatelitskih lokusa soje iznosila je 0,058. Smatra se da je vrednost *Fst* parametra u regionima koji su bili pod uticajem pozitivne selekcije najmanje dva puta veća od prosečne *Fst* vrednosti na nivou celog genoma (Casa i sar., 2005; Grainger, 2012). Na osnovu ovoga je pretpostavljeno da su lokusi koji su imali vrednost indeksa fiksacije veću od 0,116, bili zahvaćeni delovanjem pozitivne selekcije. Sedam lokusa (10,3%) je zadovoljilo ovaj kriterijum (Tabela 5, Slika 15), pri čemu je lokus Satt464 imao čak četverostruko veću *Fst* vrednost u odnosu na prosečnu vrednost.



Slika 14. Prikaz odnosa frekvencija alela između predačke (P) i elitne (E) populacije pojedinih mikrosatelitskih lokusa



Slika 15. Vrednosti indeksa fiksacije po analiziranim lokusima i hromozomima (crvena linija prikazuje dvostruku srednju *Fst* vrednost iznad koje se nalaze *Fst* vrednosti kandidat lokusa za delovanje selekcije)

Uzimajući u obzir da se prilikom detekcije kandidat lokusa na osnovu F_{st} vrednosti ne koristi precizna, statistički određena granica, u analizu su uključene i druge metode. Za razliku od prethodno primenjenih empirijskih pristupa, naredni testovi su koristili simulacije, zasnivajući se na pretpostavkama o određenim demografskim modelima. Jedan od takvih metoda detekcije lokusa je implementiran u programu Lositan. Prilikom početne analize svih lokusa, prosečna F_{st} vrednost, izračunata na osnovu simulacija je iznosila 0,096. Korišćenjem ove vrednosti je identifikovan početni skup pozitivnih kandidat lokusa, koji su uklonjeni iz narednog koraka. Prosečna F_{st} vrednost preostalih lokusa je iznosila 0,038 i ona je korišćena u svim narednim analizama. Izračunavanjem distribucije F_{st} vrednosti i očekivane heterozigotnosti primenom 100.000 simulacija, a koristeći ostrvski model migracija, identifikovani su lokusi čija je F_{st} vrednost bila statistički značajno veća od neutralne srednje vrednosti ovog parametra (Tabela 8). Na ovaj način je identifikovano 12 lokusa (17,6%) koji su se nalazili izvan intervala poverenja od 95% (Slika 16).

Tabela 8. Vrednosti populaciono-genetičkih parametara dobijeni primenom simulacija, korišćenjem ostrvskog modela migracija, u programu Lositan

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	<i>He</i>	<i>Fst</i>	<i>p</i> -vrednost
1	50,16	Satt321	0,690	0,060	0,282
	55,22	Satt295	0,641	0,259	0,008*
	56,57	Satt383	0,752	0,138	0,052
	64,51	Satt507	0,680	0,098	0,121
	108,88	Satt147	0,689	0,101	0,126
2	43,91	Satt558	0,641	0,064	0,247
	79,41	Satt644	0,321	0,114	0,112
3	36,86	Sat_084	0,696	0,091	0,156
	65,45	Satt521	0,781	0,042	0,392
	84,59	Satt234	0,537	0,219	0,033*
4	10,34	SOYGPATR	0,511	0,011	0,574
	73,32	Satt190	0,745	0,096	0,126
	123,79	Satt338	0,874	0,160	0,010*
5	32,68	Satt155	0,607	-0,004	0,857
	64,73	Satt385	0,738	0,006	0,750
	88,58	Satt174	0,519	0,024	0,465
	94,19	Satt511	0,777	0,033	0,473
	95,95	Satt211	0,591	0,191	0,051
6	26,65	Satt227	0,267	0,041	0,368
	44,66	Satt422	0,618	0,006	0,650
	112,19	Satt557	0,450	0,234	0,015*
	113,42	Satt319	0,461	0,045	0,297
	117,76	Satt460	0,509	0,120	0,110
	128,22	Satt433	0,713	0,113	0,082
7	18,58	Satt150	0,205	0,045	0,329
	33,47	Satt567	0,651	0,221	0,016*
	38,93	Satt435	0,670	0,173	0,029*
	66,98	Satt175	0,761	0,047	0,361
	112,79	Satt346	0,511	0,053	0,305
	133,83	Satt336	0,578	0,166	0,081
8	162,03	Satt429	0,692	0,069	0,240
9	14,35	Satt242	0,774	0,162	0,026*
	43,34	Satt544	0,836	0,103	0,080
	52,88	Satt240	0,630	0,047	0,339
10	9,53	Satt487	0,801	0,029	0,525
	39,82	Satt259	0,657	0,076	0,192
	55,81	Satt576	0,735	0,024	0,524
	93,37	Satt331	0,202	0,084	0,178
	100,37	Satt592	0,540	-0,001	0,750

Tabela 8 (nastavak)

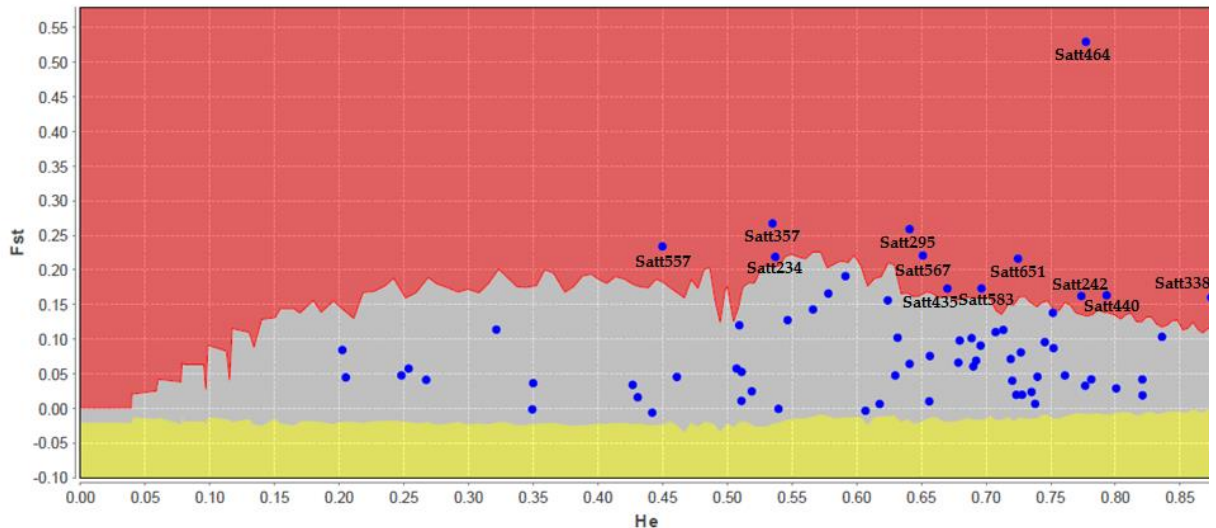
Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	<i>He</i>	<i>Fst</i>	<i>p</i> -vrednost
10	119,5	Satt243	0,720	0,040	0,392
11	46,38	Satt197	0,632	0,102	0,119
	84,19	Satt583	0,696	0,173	0,032*
12	91,12	Satt181	0,656	0,010	0,640
13	3,04	Satt343	0,752	0,087	0,152
	78,05	Satt334	0,624	0,156	0,060
	102,08	Satt144	0,254	0,057	0,293
14	73,2	Satt556	0,727	0,081	0,174
	87,58	Satt534	0,740	0,046	0,366
15	12,92	Satt411	0,442	-0,006	0,725
	19,29	Satt384	0,248	0,048	0,336
	32,09	Satt651	0,725	0,216	0,009*
	45,4	Satt263	0,821	0,019	0,665
16	39,63	Satt596	0,821	0,042	0,419
17	53,84	Satt582	0,350	0,036	0,368
	79,23	Satt389	0,719	0,071	0,208
	89,75	Satt464	0,777	0,530	0,000*
18	12,54	Satt688	0,427	0,034	0,383
	12,74	Satt570	0,547	0,127	0,137
	43,77	Satt115	0,349	-0,002	0,667
	56,52	Satt533	0,566	0,143	0,106
	62,16	Satt199	0,431	0,016	0,489
	69,87	Satt517	0,723	0,019	0,565
19	30,58	Satt398	0,679	0,066	0,233
	106,37	Satt513	0,507	0,057	0,190
	107,23	Satt373	0,707	0,110	0,088
20	36,94	Satt239	0,728	0,020	0,564
	112,7	Satt440	0,793	0,163	0,027*

He-očekivana heterozigotnost; *Fst*-indeks fiksacije

* lokusi na koje je delovala selekcija na nivou značajnosti $p < 0,05$

Najveći deo ispitivanih lokusa bio je selektivno neutralan i oni su se nalazili u središnjem regionu distribucije vrednosti *Fst* i očekivane heterozigotnosti (sivi region, Slika 16). Svi lokusi koji su identifikovani kao selektivno značajni primenom pristupa u programu Lositan su bili pozicionirani iznad selektivno neutralnog regiona (crveni region, Slika 16). Činjenica da su se nalazili u gornjem nivou distribucije vrednosti indeksa fiksacije je ukazivala da ovi lokusi predstavljaju kandidate za delovanje pozitivne selekcije.

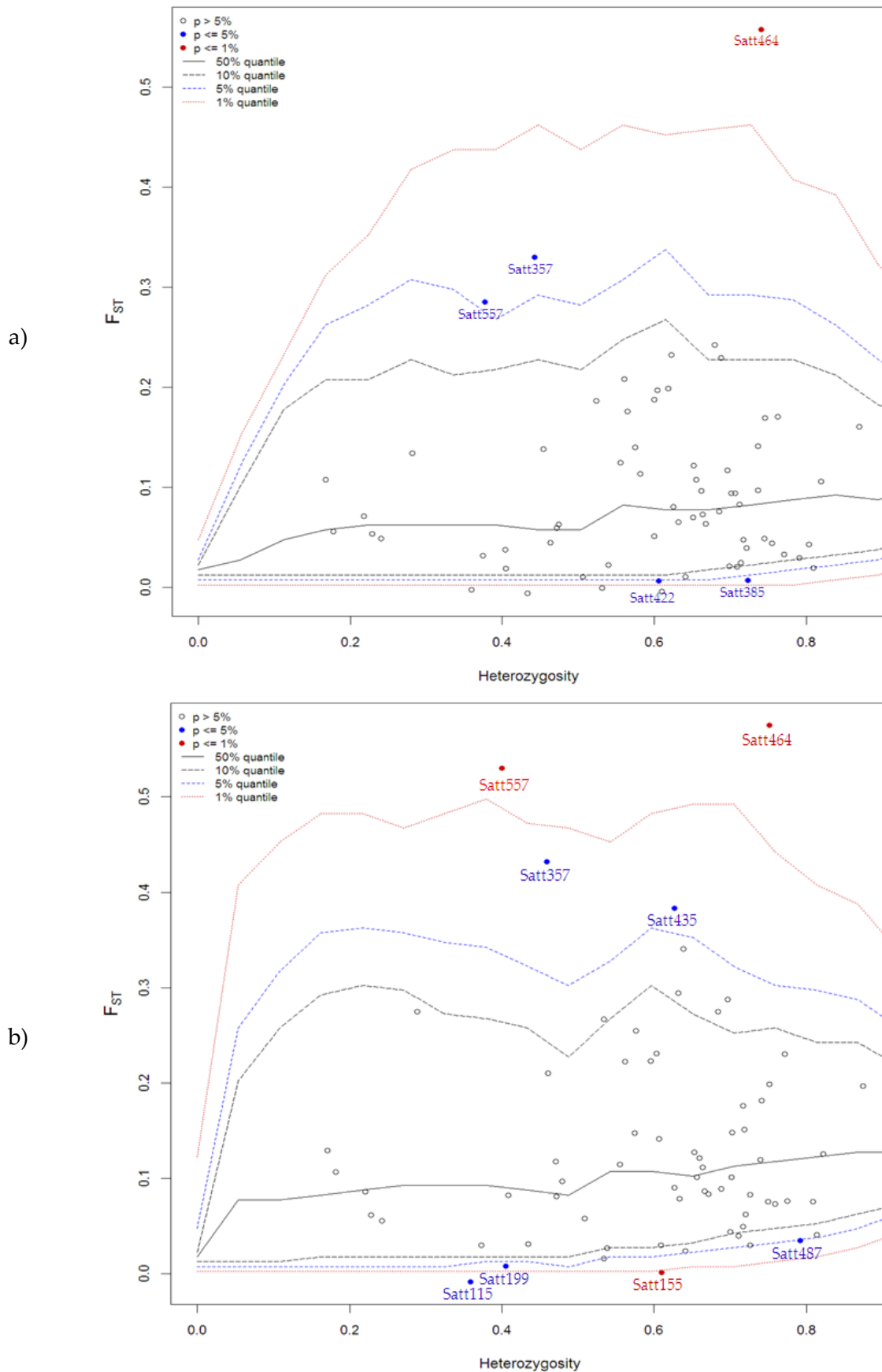
Pozicija lokusa u donjem nivou distribucije F_{st} vrednosti (žuti region) bi ukazivala na delovanje balansne selekcije. Tokom analize nije uočen ni jedan lokus na koji je delovala balansna selekcija.



Slika 16. Vrednosti indeksa fiksacije (F_{st}) i očekivane heterozigotnosti (H_e) lokusa na osnovu kojih su identifikovani lokusi na koje je delovala selekcija koristeći ostrvski model migracija u programu Lositan

Za detekciju lokusa koji su bili pod uticajem selekcije upotrebom ostrvskog i hijerarhijskog ostrvskog modela migracija korišćen je program Arlequin (Prilog: Tabela 6). Primenom ostrvskog modela, na nivou značajnosti od 5%, uočeno je pet lokusa na koje je delovala selekcija (Slika 17a), pri čemu su tri lokusa bila pod uticajem pozitivne dok je na dva lokusa delovala balansna selekcija. Rezultati koji su dobijeni na osnovu ostrvskog modela migracija u programu Arlequin su se delimično podudarali sa rezultatima programa Lositan koji je koristio isti model migracija. Analiza u programu Lositan je potvrdila samo tri lokusa, koji su bili pod uticajem pozitivne selekcije.

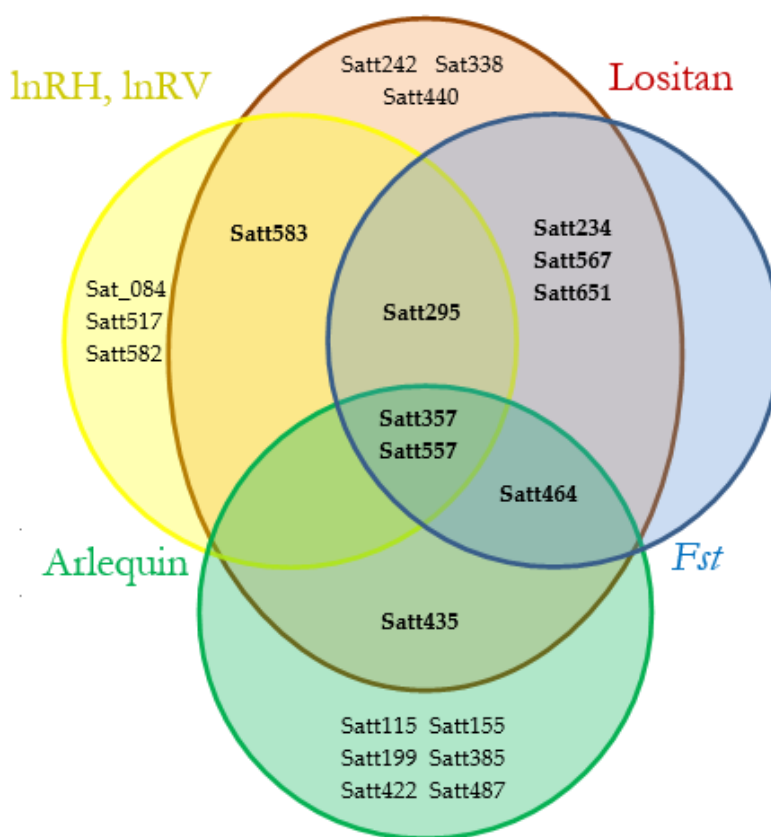
Nakon primene hijerarhijskog ostrvskog modela migracija, kod 8 (11,8%) lokusa je uočeno delovanje selekcije ($p < 0,05$), pri čemu su četiri lokusa nosila potpis pozitivne, dok su preostala četiri bila pod uticajem balansne selekcije (Slika 17b). Svi lokusi koji su predstavljali kandidate za delovanje pozitivne selekcije a koji su identifikovani pomoću programa Arlequin su bili potvrđeni i primenom testa u programu Lositan.



Slika 17. Detekcija lokusa na koje je delovala selekcija upotrebom: a) ostrvskog i b) hijerarhijskog ostrvskog modela migracija u programu Arlequin

Poređenjem rezultata koji su dobijeni primenom različitih modela migracija (ostrvski i hijerarhijski ostrvski) u programu Arlequin je uočen određen stepen poklapanja rezultata za pozitivne lokuse. Mikrosatelitski markeri koji su bili kandidati za balansnu selekciju se u različitim pristupima nisu podudarili (Slika 18).

Posmatranjem kandidat lokusa na koje je delovala selekcija, a koji su dobijeni primenom svih testova, uočeni su pojedini lokusi, najčešće kandidati za delovanje balansne selekcije, koji su detektovani upotrebom samo jedne metode (Slika 18), što može ukazivati da različiti pristupi daju različiti broj lažno pozitivnih rezultata. Osim toga, moguće je uočiti različit nivo poklapanja lokusa koji su identifikovani različitim pristupima (Slika 18).



Slika 18. Identifikovani kandidat lokusi za delovanje selekcije na osnovu svih primenjenih pristupa

Najveći broj kandidat lokusa za delovanje selekcije je detektovan primenom ostrvskog modela migracija koji je implementiran u programu Lositan, a koji je identifikovao 12 potencijalnih lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija. Najveći deo ovih lokusa je bio potvrđen primenom drugih statističkih pristupa.

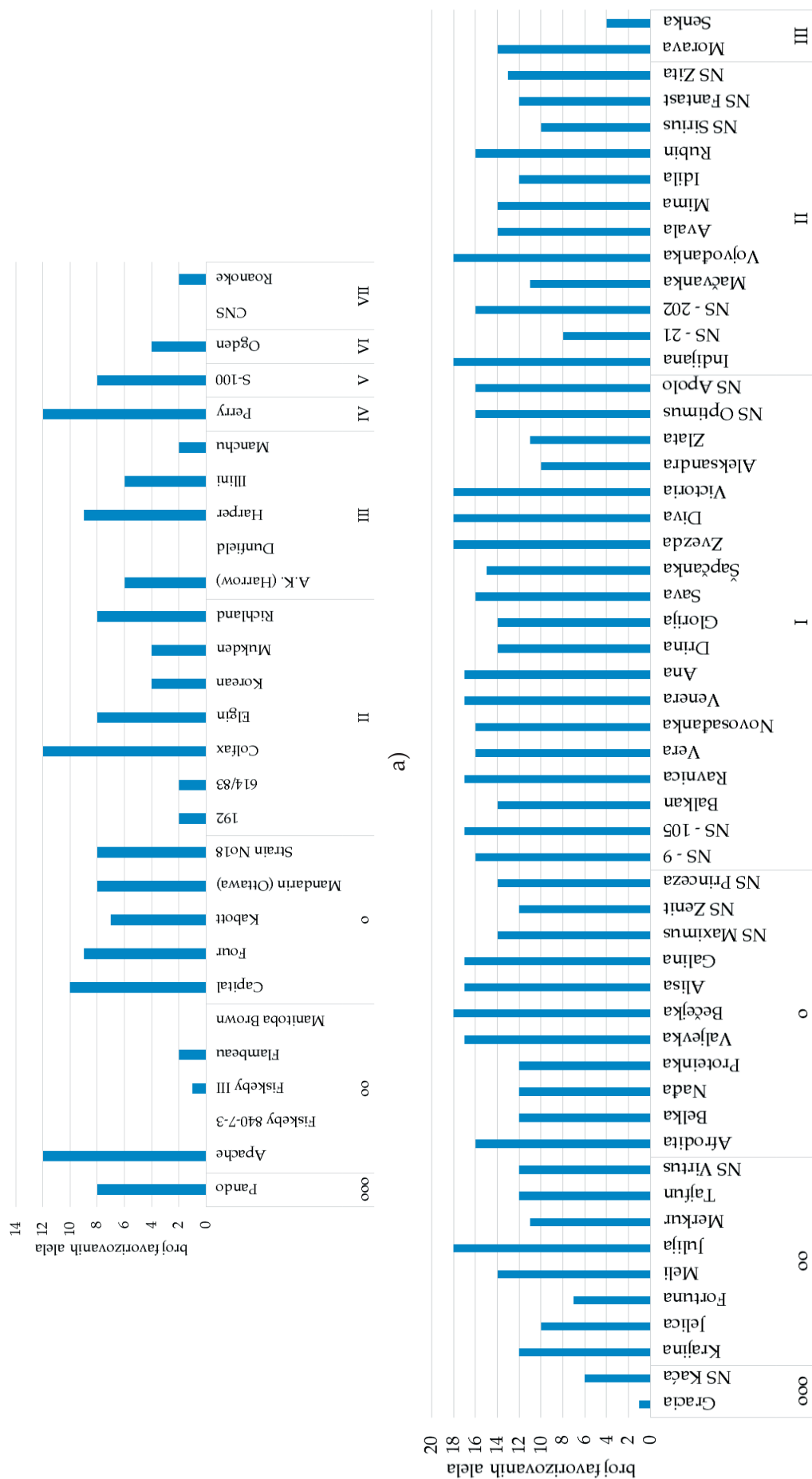
Nasuprot ovome, lnRH i lnRV testovi su dali najmanji broj lokusa kandidata. Njihovom primenom je otkriveno ukupno tri kandidata za balansnu i četiri za pozitivnu selekciju. Svi kandidat lokusi koji su detektovani primenom lnRH testa su potvrđeni i drugim pristupima. Lokus Satt295 koji je prema lnRH testu bio kandidat za balansnu selekciju je drugim pristupima identifikovan kao kandidat za pozitivnu selekciju. Od četiri potencijalna lokusa dobijena primenom lnRV testa, jedino se lokus Satt557 podudara sa rezultatima drugih pristupa.

Svi mikrosatelitski markeri koji su identifikovani na osnovu vrednosti parametra *Fst* su bili potvrđeni i primenom ostrvskog modela migracija u programu Lositan, dok su tri lokusa potvrđena upotrebom hijerarhijskog, kao i nehijerarhijskog ostrvskog modela migracija u programu Arlequin. Svi pozitivni kandidat lokusi na osnovu rezultata dobijenih u programu Arlequin su bili potvrđeni i drugim pristupima, dok ni jedan lokus koji je bio pod uticajem balansne selekcije nije bio potvrđen korišćenjem drugih statističkih testova.

Ukupno devet lokusa koji su bili potvrđeni kao selektivno značajni primenom najmanje dva statistička testa (Slika 18) su predstavljali jake kandidat lokuse na koje je delovala pozitivna selekcija tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Identifikovani lokusi se nalaze na hromozomima 1, 3, 6, 7, 11, 15 i 17. Samo dva mikrosatelitska lokusa (Satt357 i Satt557), oba locirana na hromozomu 6, su bili potvrđeni kao kandidati za delovanje selekcije upotrebom svih testova, te predstavljaju najjače kandidate na koje je delovala selekcija. Detekcija selektivno značajnih lokusa predstavlja prvi korak ka identifikaciji gena koji su odgovorni za fenotipske razlike između elitnih i predačkih genotipova, a koje su nastale kao posledica adaptacije soje na specifične agroklimatske uslove.

Nakon identifikacije selektivno značajnih lokusa, analizirani su favorizovani aleli ovih lokusa kod genotipova predačke i elitne populacije (Slika 19). Sedam genotipova elitne populacije je sadržalo maksimalan broj favorizovanih alela, što u predačkoj populaciji nije bio slučaj ni kod jednog genotipa.

Najveći broj, 12 favorizovanih alela, u predačkoj populaciji su sadržali genotipovi Apache, Colfax i Perry. Najmanji broj ovih alela u elitnoj populaciji je uočen kod genotipova Gracia, Senka, NS Kaća i Fortuna.



Slika 19. Ukupan broj favorizovanih alela kod genotipova a) predadžke i b) elitne populacije raspoređenih prema grupama zrenja

Kod pojedinih predačkih genotipova, Fiskeby 840-7-3, Manitoba Brown, Dunfield i CNS, nije identifikovan ni jedan alel favorizovan selekcijom (Slika 19a). U elitnoj populaciji je oko 91% genotipova imalo 10 i više favorizovanih alela, dok je isti broj alela sadržalo oko 14% predačkih genotipova, oslikavajući značajan uticaj oplemenjivanja soje na povećanje akumulacije poželjnih alela (Slika 19).

6.4.1. POPULACIONE RAZLIKE U GENETIČKOM DIVERZITETU I DIFERENCIJACIJI NA OSNOVU RAZLIČITIH GRUPA LOKUSA

Na osnovu rezultata primenjenih pristupa, svi ispitivani lokusi su podeljeni u dve grupe, na kandidat pozitivne i kandidat neutralne lokuse. Posmatrani su populaciono-genetički parametri koristeći različite grupe lokusa. U predačkoj populaciji su parametri broj alela po lokusu i "allelic richness" imali približno slične vrednosti i na osnovu neutralnih i na osnovu pozitivnih kandidat lokusa (Tabela 9). U elitnoj populaciji su ovi parametri imali nižu vrednost kada su izračunavanja obavljena koristeći pozitivne lokuse, odnosno uočeno je veće smanjenje varijabilnosti kod pozitivnih kandidat lokusa (Tabela 9). Kandidat lokusi za pozitivnu selekciju su u elitnoj populaciji imali statistički značajno manji genetički diverzitet u poređenju sa neutralnim lokusima (MW test, $p < 0,01$), dok u predačkoj populaciji navedene razlike nisu bile statistički značajne ($p = 0,405$). Slično smanjenje je uočeno i kod očekivane heterozigotnosti (Tabela 9).

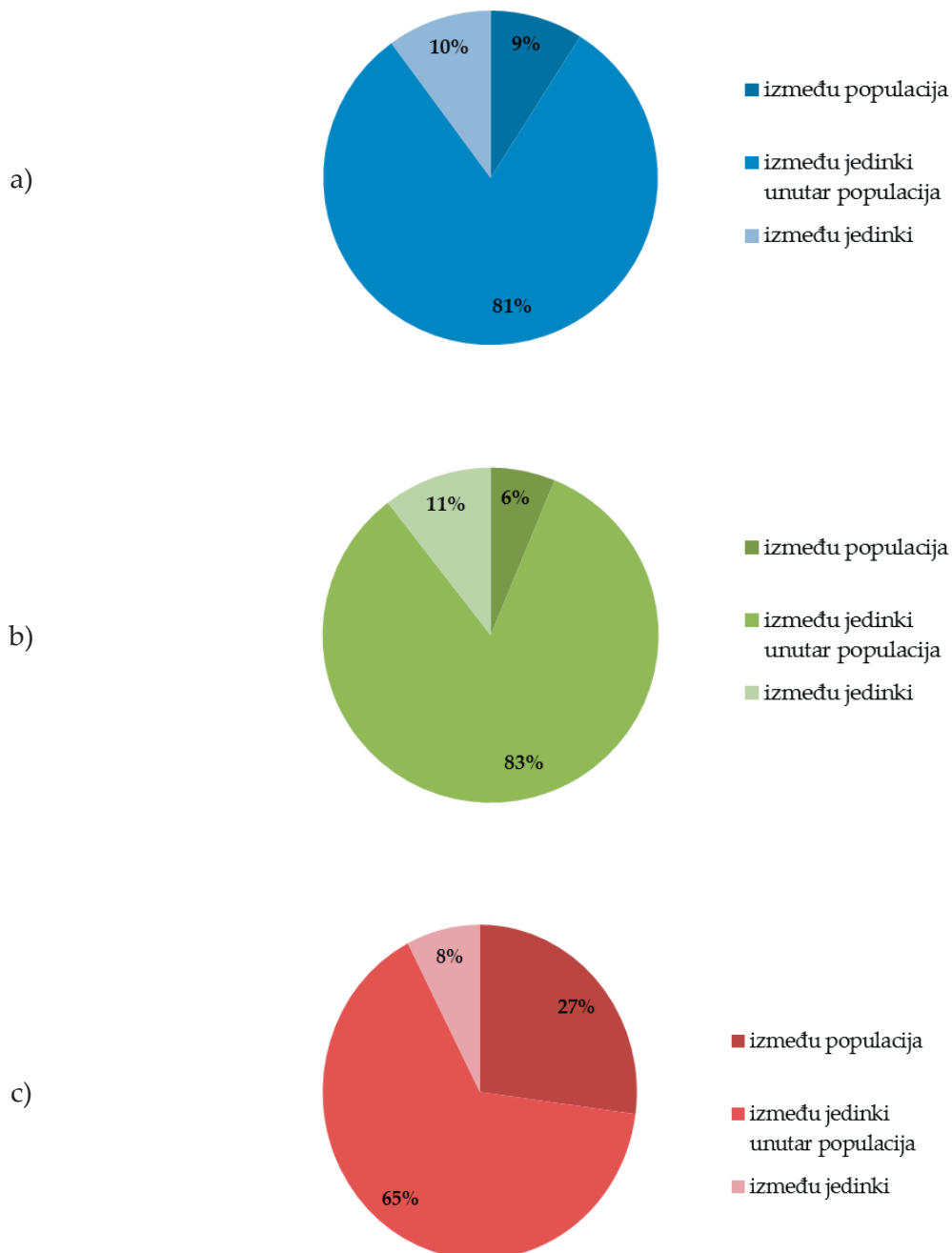
Tabela 9. Populaciono-genetički parametri u analiziranim populacijama, za neutralne i pozitivne kandidat lokuse

Kandidat Lokusi	Populacija	N_a	R_s	H_e	F_{st}
Neutralni	Predačka	5,034	5,002	0,631	0,043
	Elitna	4,186	3,814	0,505	
Pozitivni	Predačka	5,000	4,996	0,594	0,157
	Elitna	3,556	3,230	0,340	

N_a -broja alela po lokusu; R_s -"allelic richness"; H_e -očekivana heterozigotnost; F_{st} - indeks fiksacije

Genetička diferencijacija između predačke i elitne populacije je na osnovu pozitivnih kandidat lokusa bila visoka ($F_{st} > 0,15$), dok je skup neutralnih lokusa ukazivao na nizak stepen populacione diferencijacije ($F_{st} < 0,05$) (Tabela 9). Slični rezultati su dobijeni i analizom

molekularne varijanse. Uočeno je da se varijabilnost između populacija povećala sa 6% na osnovu neutralnih lokusa, na 27% kada se posmatraju samo kandidat lokusi za pozitivnu selekciju (Slika 20, Tabele 11 i 12).



Slika 20. Analiza molekularne varijanse za različite skupove lokusa: a) svi lokusi; b) neutralni lokusi; c) pozitivni lokusi

Analizom molekularne varijanse pozitivnih kandidat lokusa, najveća divergentnost je uočena između jedinki unutar populacija (Tabela 10). Divergentnost između populacija je takođe bila povišena u odnosu na rezultate dobijene AMOVA analizom svih lokusa (Slika 20).

Tabela 10. Rezultati analize molekularne varijanse (AMOVA) za pozitivne kandidat lokuse u analiziranim populacijama soje

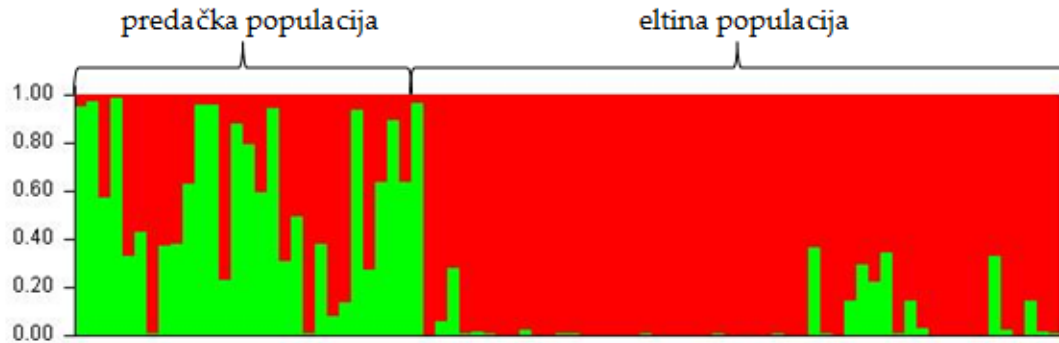
Izvor varijacije	Suma kvadrata	Varijabilnost komponenti	Procenat varijabilnosti	<i>p</i> -vrednost
Između populacija	56,61	0,72	27,12	<0,001
Između jedinki unutar populacija	291,93	1,74	65,30	<0,001
Između svih jedinki	16,50	0,20	7,58	<0,001
Ukupno	365,03	2,66		

Tabela 11. Rezultati analize molekularne varijanse (AMOVA) za neutralne kandidat lokuse u analiziranim populacijama soje

Izvor varijacije	Suma kvadrata	Varijabilnost komponenti	Procenat varijabilnosti	<i>p</i> -vrednost
Između populacija	110,71	1,09	6,23	<0,001
Između jedinki unutar populacija	2464,33	14,52	83,29	<0,001
Između svih jedinki	149,50	1,83	10,48	<0,001
Ukupno	2724,55	17,43		

AMOVA neutralnih kandidat lokusa je potvrdila nizak stepen genetičke diferencijacije populacija, oko četiri puta niži u odnosu na rezultate dobijene na osnovu pozitivnih lokusa (Tabela 11). Osim toga, selektivno neutralni lokusi su ukazivali na visok nivo varijabilnosti između genotipova unutar populacija.

Obavljena je i analiza genetičke strukture populacija soje, u programu STRUCTURE, uzevši u obzir samo selektivno neutralne lokuse. Nakon analize genetičke strukture na osnovu ovog skupa lokusa uočeno je da nije došlo do značajnih promena u genetičkoj strukturi analiziranih populacija (Slika 21), što je u saglasnosti sa činjenicom da je selekcija delovala na mali broj lokusa. Svi genotipovi elitne grupe su zadržali istu podelu, dok su za samo tri sorte predačke populacije dobijeni različiti rezultati.



Slika 21. Grafički prikaz genetičke strukture pređačke i elitne populacije soje na osnovu skupa neutralnih mikrosatelitskih lokusa ($K=2$)

6.5. ANALIZA GENETIČKOG USKOG GRILA U POPULACIJAMA SOJE

Kako bi se utvrdilo da li je na identifikovane lokuse zaista delovala selekcija ili predstavljaju lažno pozitivne rezultate uzrokovane određenim demografskim događajima, obavljena je analiza prolaska populacija kroz genetičko usko grlo, koja je implementirana u programu BOTTLENECK (Piry i sar., 1999).

Tokom analiza je primenjen TPM (eng. *two-phase mutation*) model koji je najviše odgovarao profilu mutacija analiziranih mikrosatelita. Na osnovu rezultata analize selektivno neutralnih mikrosatelitskih markera, primenom *Sign* i *Wilcoxon* testova, nije uočen prolazak ispitivanih populacija soje kroz genetičko usko grlo na nivou signifikantnosti $p < 0,05$ (Tabela 12).

Kod skupa pozitivnih kandidat lokusa primenom istog modela mutacija, u pređačkoj populaciji nije uočen prolazak kroz usko grlo, dok su u elitnoj populaciji oba primenjena testa, *Sign* i *Wilcoxon*, pokazala statistički značajno povećanje heterozigotnosti na nivou značajnosti $p < 0,05$ (Tabela 12), što je ukazivalo da je elitna populacija verovatno prošla kroz drastično smanjenje efektivne veličine, na osnovu analize pozitivnih kandidat lokusa.

Kada se posmatraju analize pojedinačnih lokusa, primenom istog modela mutacija, u pređačkoj populaciji je kod pet neutralnih lokusa, a u elitnoj populaciji kod šest lokusa, uočen prolazak kroz genetičko usko grlo (Prilog: Tabele 7 i 8). Navedeni lokusi se nisu podudarali.

Tabela 12. Analiza genetičkog uskog grla za različite skupove analiziranih SSR lokusa primenom TPM modela mutacija

Populacija	neutralni lokusi		pozitivni lokusi	
	<i>Sign test</i>	<i>Wilcoxon test</i>	<i>Sign test</i>	<i>Wilcoxon test</i>
Pređačka	0,307	0,066	0,566	1
Elitna	0,203	0,451	0,036*	0,037*

* $p < 0,05$

6.6. GAMETSKI DISEKVILIBRIJUM

Analiza gametskog disekvilibriruma je obuhvatila samo alele čija je frekvencija bila veća od 0,05, odnosno iz analize su isključeni retki aleli. U pređačkoj i u elitnoj populaciji soje je uočeno ukupno 2278 parova lokusa, za koje su izračunati parametri D' i r^2 , koji kvantifikuju nivo gametskog disekvilibriruma između lokusa. Statistički značajne neslučajne asocijacije alela različitih lokusa, na nivou značajnosti $p < 0,001$ su u pređačkoj populaciji uočene kod 26 parova (1,1%), i kod 22 para (1,0%) primenom strožijeg kriterijuma $r^2 > 0,1$ i $p < 0,001$ (Tabela 13). Ukupan broj statistički značajnih asocijacija u elitnoj populaciji je bio skoro dvostruko veći. Uočen je 81 par lokusa na nivou poveranja $p < 0,001$ (3,6%) i 37 parova kada je $r^2 > 0,1$ i $p < 0,001$.

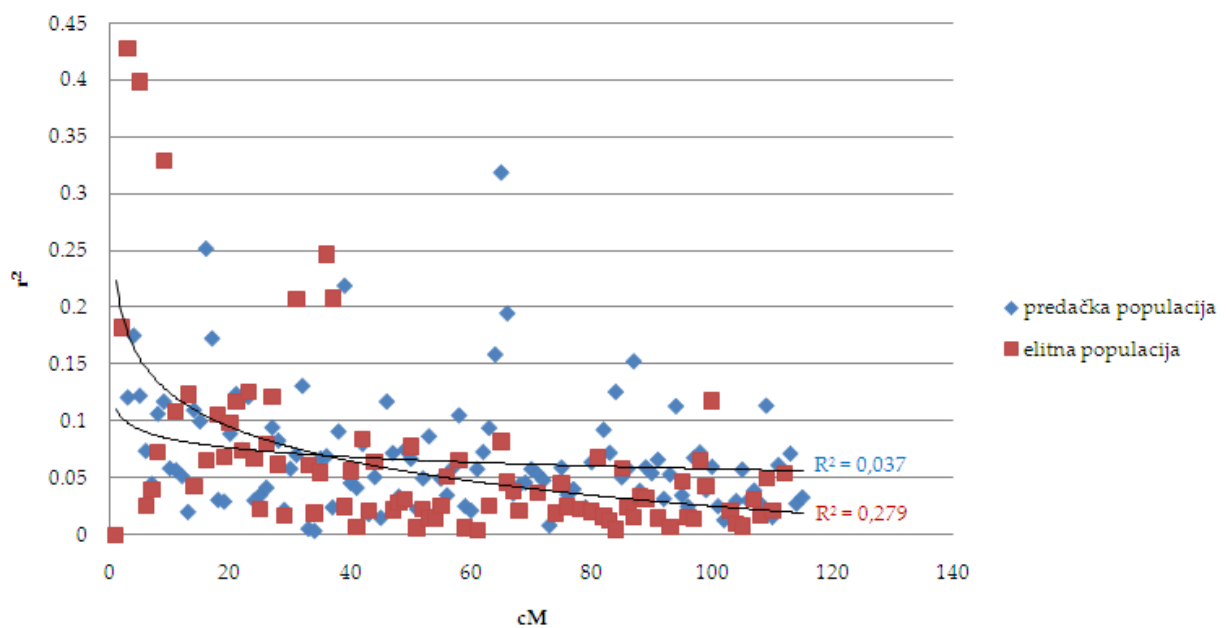
Tabela 13. Broj parova lokusa sa statistički značajnim gametskim disekvilibrirumom i njihov procentualni udeo (vrednosti u zagradama) u analiziranim populacijama soje

populacija	ukupan broj parova		broj vezanih parova		broj nevezanih parova	
	pređačka	elitna	pređačka	elitna	pređačka	elitna
	2278		114		2164	
$p < 0,001$	26 (1,1)	81 (3,6)	3 (2,6)	15 (13,2)	23 (1,1)	66 (3,1)
$p < 0,001$; $r^2 > 0,1$	22 (1,0)	37 (1,6)	3 (2,6)	10 (8,8)	19 (0,9)	27 (1,2)

Od ukupnog broja parova lokusa, 95% (2164 parova) se nalazilo na različitim hromozomima (eng. *unlinked*), i u pređačkoj i u elitnoj populaciji soje. Kod pređačkih genotipova, r^2 vrednosti između lokusa sa različitih hromozoma su se kretale od 0,001 do 0,437. Kod elitne populacije variranje r^2 vrednosti je bilo u mnogo manjem opsegu, od 0 do 0,258.

Analizirani su parametri gametskog disekvilibrjuma kod ukupno 114 parova lokusa (5%) sa istog hromozoma, u obe populacije (Prilog: Tabela 9). Kada se posmatraju vrednosti parametara samo vezanih parova, uočava se dvostruko povećanje statistički značajnih asocijacija u predačkoj populaciji u odnosu na broj nevezanih parova, dok je u elitnoj populaciji ovo povećanje oko četiri puta veće (Tabela 13). U predačkoj populaciji r^2 vrednosti vezanih lokusa su varirale od 0,004 do 0,319. U elitnoj populaciji je 15 parova lokusa (13,2%) bilo statistički značajno za $p < 0,001$, od čega je 10 lokusa (8,8%) imalo $r^2 > 0,1$. Vrednosti r^2 su se kretale u opsegu od 0,004 do 0,428.

Posmatranjem vrednosti r^2 parametra samo parova vezanih lokusa u zavisnosti od njihove udaljenosti na genetičkoj mapi (cM), u predačkoj populaciji se može uočiti tek blagi nagib povučene krive korelacije između jačine gametskog disekvilibrjuma i udaljenosti lokusa (Slika 22). U elitnoj populaciji se uočava veći nagib krive korelacije, ukazujući na veće opadanje gametskog disekvilibrjuma u zavisnosti od genetičke udaljenosti posmatranih lokusa.



Slika 22. Kvadratni koeficijent korelacije (r^2) između lokusa sa istog hromozoma u predačkoj i elitnoj populaciji soje u zavisnosti od udaljenosti lokusa (R^2 -koeficijent determinacije)

6.7. KARAKTERIZACIJA IDENTIFIKOVANIH SELEKTIVNO ZNAČAJNIH

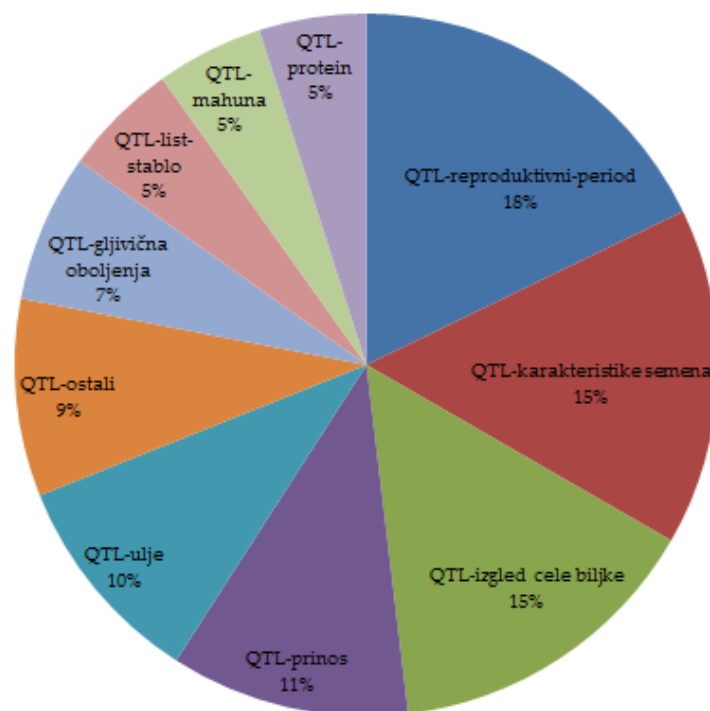
KANDIDAT LOKUSA

6.7.1. ANALIZA KOLOKACIJE POZNATIH QTL REGIONA I SELEKTIVNO ZNAČAJNIH

KANDIDAT LOKUSA

Kandidat lokusi koji su identifikovani primenom principa populacione genetike ukazuju na regione genoma koji nose QTL-ove ili funkcionalne gene na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Poređene su genomske lokacije mikrosatelita koji su identifikovani kao selektivno značajni, sa položajem prethodno mapiranih lokusa za kvantitativne osobine kod soje. Baza podataka SoyBase pruža informacije o QTL-ovima iz različitih biparentalnih populacija (SoyBase, 2015). Sačinjena je lista lokusa za kvantitativne osobine koji se nalaze u okolini selektivno značajnih kandidat lokusa u intervalu ukupne širine 5 cM (Prilog: Tabela 10). U neposrednoj blizini svih 9 kandidat lokusa za delovanje pozitivne selekcije se, na osnovu genetičke mape "Composite 2003" nalazi veći broj QTL-ova (Prilog: Slika 1). U regionu mikrosatelitskog markera Satt557 je uočeno čak 125 prethodno mapiranih QTL-ova, dok su se u okolini markera Satt357 nalazila samo tri lokusa za kvantitativne osobine. U ostalim selektivno značajnim regionima genoma je uočeno približno od 10 do 20 QTL-ova. Ukupno je identifikovano 264 lokusa za kvantitativne osobine, koji su u velikoj meri odgovarali fenotipskim svojstvima koja su bila pod uticajem selekcije tokom oplemenjivanja soje (SoyBase, 2015). Četiri grupe QTL-ova su dominirale u identifikovanim selektivno značajnim regionima genoma soje.

Najveći broj uočenih QTL-ova (18%) je određivao reproduktivni razvoj biljke (Slika 23), a ovi lokusi su determinisali pojavu prvog cveta, osetljivost na dužinu fotoperioda, vreme sazrevanja mahune, dužinu reproduktivnog perioda, formiranje i nalivanje semena. Obzirom da je period sazrevanja jedan od važnijih faktora koji utiču na prinos, navedena kategorija QTL-ova je u potpunosti u skladu sa ciljevima kojima se težilo tokom stvaranja elitnih sorti.



Slika 23. Distribucija QTL-ova koji su identifikovani "hitchhiking" mapiranjem kod genotipova soje adaptiranih na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope

Druga po zastupljenosti kategorija (15%) je obuhvatila QTL-ove koji su determinisali morfološke karakteristike semena, odnosno dužinu, širinu, debljinu, zapreminu, težinu i obojenost semenjače. Pored navednih, u ovoj grupi su se nalazili i lokusi koji su određivali hemijski sastav semena soje, a posebno su uticali na sadržaj biološki aktivnih jedinjenja kao što su izoflavoni (daidzein, genistein, glicitein), oligosaharidi i α -tokoferol (E vitamin). Jednako zastupljeni u kandidat regionima (15%) su bili i lokusi koji su uticali na habitus biljke, određujući visinu biljke, otpornost na poleganje, grananje, broj nodija na glavnom stablu, masu stabla i korena, broj cvetova i gustinu dlačica. Osim navedenih, kao što je i očekivano, u regionima na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja je bio zastupljen veliki broj QTL-ova koji su uticali na prinos (11%). Pored lokusa koji su imali direktan uticaj na prinos zrna po biljci, veliki broj je determinisao komponente prinosa kao što su broj mahuna, broj zrna po mahuni i masu 1000 zrna. Zajedno sa navedenim kategorijama lokusa za kvantitativne osobine, zapažen je i veliki broj lokusa koji su uticali na hemijski sastav ulja određujući sadržaj masnih kiselina, linolne, oleinske i palmitinske. Pored njih su bili zastupljeni i lokusi koji su determinisali ukupan sadržaj proteina i aminokiselina u semenu. Osim navedenih, nekoliko lokusa je uticalo i na odnos proteina i ulja u semenu soje. Sve

navedeno je ukazivalo da je tokom oplemenjivanja soje osim visokog prinosa, važan kriterijum bio i kvalitet semena.

Ostali lokusi za kvantitativne osobine, koji su bili zastupljeni u nešto manjoj meri, su determinisali karakteristike korena (morfoloske osobine i broj nodula), mahune (broj i karakteristike omotača), liske (oblik, površinu, sadržaj hlorofila) i otpornost prema insektima, nematodama i gljivama.

Ukoliko se primeni drugi kriterijum, i lokalizacija kandidat lokusa posmatra isključivo u okviru mapirajućih intervala poznatih QTL-ova, uočava se da se osam od devet lokusa kandidata za delovanje pozitivne selekcije nalazilo u direktnoj vezi sa 55 prethodno mapiranih QTL-ova (Tabela 14 i 15). Jedino marker Satt295 nije bio u direktnoj vezi ni sa jednim mapiranim lokusom za kvantitativne osobine. Najveći broj lokusa nalazio se na pozicijama markera Satt567 i Satt557, gde je uočeno 24 i 11 QTL-ova. Svi ostali mikrosateliti koji su predstavljali kandidate za pozitivnu selekciju su se nalazili najčešće u vezi sa jednim do tri lokusa za kvantitativne osobine (Tabela 15). Od ukupnog broja uočenih lokusa u mapirajućem intervalu, najveći procent (22,2%) je imao uticaj na reproduktivni period kontrolišući vreme cvetanja, sazrevanja mahune, osetljivost na fotoperiod i samu dužinu reproduktivnih faza. Lokusi koji su direktno determinisali prinos biljke i karakteristike semena (visinu, dužinu, širinu, težinu i zapreminu) su bili zastupljeni sa po približno 15%.

U regionu markera Satt567 najveći broj mapiranih QTL-ova je uticao na prinos, visinu biljke, vreme sazrevanja, sadržaj proteina i na karakteristike semena, uključujući dužinu, visinu, širinu i zapreminu (Specht i sar., 2001; Tischner i sar., 2003; Wang i sar., 2004; Salas i sar., 2006). U blizini markera Satt234 su takođe pronađeni QTL-ovi koji su determinisali karakteristike semena (Salas i sar., 2006). Nekoliko QTL-ova koji utiču na prinos, vreme cvetanja i sazrevanja su mapirani u regionu Satt557 na hromozomu 6 (Specht i sar., 2001; Githiri i sar., 2007; Guzman i sar., 2007). Ovaj lokus takođe nosi major QTL za osetljivost prema fotoperiodu (Liu i Abe, 2009).

Tabela 14. Lokusi kvantitativnih osobina koji su bili u direktnoj vezi sa kandidat lokusima za pozitivnu selekciju (SoyBase, 2015)

Hromozom	Lokus	QTL kategorija	Oznaka QTL u Soybase	Referenca
1	Satt295	nije dostupno	nije dostupno	-
3	Satt234	QTL-mahuna	Pod number 1-2	Zhang i sar., 2010
		QTL-karakteristike semena	Seed length 1-4	Salas i sar., 2006
		QTL-list-stablo	Leaflet chlorophyll 1-3	Li i sar., 2010
6	Satt557	QTL-gljivična oboljenja	Phytoph 5-1	Wu i sar., 2011
		QTL-karakteristike semena	Seed weight 34-15	Han i sar., 2012
		QTL-protein	Seed protein 28-1	Liang i sar., 2010
			First flower 22-2	Githiri i sar., 2007
			Photoperiod insensitivity 3-1	Liu i Abe, 2009
			Photoperiod insensitivity 4-1	Specht i sar., 2001
			Pod maturity 13-4	
			Pod maturity 19-5	
			Plant height 25-4	Guzman i sar., 2007
			Seed yield 19-3	
7	Satt357	QTL-prinos	Seed yield 23-5	Zhang et al, 2004
		QTL-izgled cele biljke	Plant height 27-1	Alcivar i sar., 2007
		QTL-koren	Root length, primary 2-1	Brensha i sar., 2012
		QTL-insekti	Common cutworm 1-2	Komatsu i sar., 2005
			Corn earworm 8-2	Terry i sar., 2000
			Seed height 1-7	
			Seed length 1-6	Salas i sar., 2006
			Seed volume 1-6	
			Seed width 1-5	
			Seed Glu 1-6	
7	Satt567	QTL-karakteristike semena	Seed Leu 1-6	Panthee i sar., 2006
		QTL-protein	Seed protein 12-4	Specht i sar., 2001

Tabela 14 (nastavak)

Hromozom	Lokus	QTL kategorija	Oznaka QTL u Soybase	Referenca
		QTL-protein	Seed protein 13-3	Csanadi i sar., 2001
			First flower 6-1	
			Pod maturity 10-2	Orfi sar., 1999
		QTL-reproduktivni-period	Reproductive stage length 4-3	
			Pod maturity 14-4	
			Pod maturity 15-1	Wang i sar., 2004
			Plant height 13-9	Specht i sar., 2001
	Satt567	QTL-izgled cele biljke	Plant height 18-6	
			Plant height 19-5	Wang i sar., 2004
			Seed abortion 1-2	
			Seed abortion 1-4	Tischner i sar., 2003
		QTL-prinos	Seed set 1-7	
			Seed yield 16-5	
			Seed yield 17-4	Wang i sar., 2004
			Seed yield 17-5	
	Satt435	QTL-reproduktivni-period	Reproductive stage length 5-4	Cheng i sar., 2011
		QTL_insekti	Rag 3-1	Zhang i sar., 2009
			SCN 17-1	
			SCN 18-2	
			SCN 20-1	Yue i sar., 2001
		QTL-nematode	SCN 23-1	
			SCN 24-1	
	Satt583		SCN 32-2	Ferdous i sar., 2006
		QTL-karakteristike semena	Seed weight 36-11	Han i sar., 2012

Tabela 14 (nastavak)

Hromozom	Lokus	QTL kategorija	Oznaka QTL u Soybase	Referenca
11	Satt583	QTL-karakteristike semena QTL-reproduktivni-period	Seed weight 35-9 Reproductive stage length 8-1	Han i sar., 2012 Komatsu i sar., 2012
15	Satt651	QTL-gljivična oboljenja QTL-ulje	Phytoph 5-2 Seed palmitic 6-3 Seed oleic 6-6	Wu i sar., 2011 Li i sar., 2011 Bachlava i sar., 2009
17	Satt464	QTL-neorganski	Al tolerance 3-8	Korir i sar., 2011

6.7.2. KARAKTERIZACIJA SELEKTIVNO ZNAČAJNIH KANDIDAT LOKUSA

NA NIVOU GENA

Na osnovu genomske pozicije kandidat lokusa za pozitivnu selekciju, u bazi podataka SoyBase je obavljeno pretraživanje gena koji se nalaze u intervalu ukupne širine 200 kbp, sa mikrosatelitskim markerom u središtu posmatranog intervala. U devet selektivno značajnih regiona se nalazilo ukupno 111 potencijalnih gena, na osnovu Wm82.a2 sekvence genoma soje (Tabela 15). Najmanji broj gena je uočen u okolini lokusa Satt464, dok su se markeri Satt234, Satt357 i Satt651 nalazili u neposrednoj blizini oko 20 gena. Broj gena je u potpunosti odgovarao uočenoj poziciji mikrosatelitskih markera na hromozomu. Naime, u bazi podataka SoyBase je utvrđeno da su se lokusi Satt295, Satt464, Satt557 i Satt583 nalazili u pericentromernim regionima hromozoma, što je u saglasnosti sa malim brojem gena koji je uočen u ovim regionima (Tabela 15). Nasuprot ovome, u regionima mikrosatelitskih markera Satt234, Satt357, Satt567 i Satt651, koji su uočeni u peritelomernim delovima hromozoma, je uočen veći broj potencijalnih gena (veći od deset) (Tabela 15). Jedino je u regionu lokusa Satt435, koji se nalazio u pericentromernom delu, uočen nešto veći broj gena u odnosu na druge lokuse ovog dela hromozoma.

Tabela 15. Identifikovani QTL-ovi i geni u selektivno značajnim regionima hromozoma

Hromozom	Pozicija na mapi		Lokus	Broj QTL-ova	Broj gena	Region hromozoma
	cM	Mbp				
1	55,2	37,4	Satt295	-	5	pericentromerni
3	84,6	42,2	Satt234	3	20	peritelomerni
6	112,2	20,0	Satt557	11	5	pericentromerni
	151,9	49,8	Satt357	2	22	peritelomerni
7	33,5	4,5	Satt567	24	13	peritelomerni
	38,9	5,5	Satt435	2	12	pericentromerni
11	84,2	27,5	Satt583	9	5	pericentromerni
15	32,1	6,8	Satt651	3	25	peritelomerni
17	89,7	24,5	Satt464	1	4	pericentromerni
			ukupno	55	111	

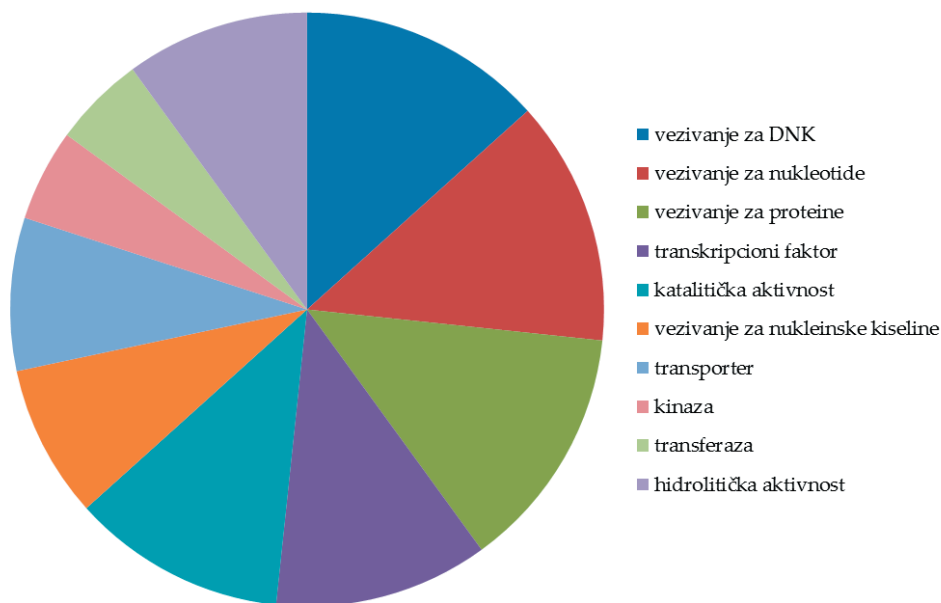
Nakon identifikacije se pristupilo funkcionalnoj anotaciji gena i genskih produkata na osnovu informacija sadržanim u bazama podataka SoyBase i SoyKB: Soybean Knowledge Base (Joshi i sar., 2014).

Tom prilikom su određeni domeni ontologije gena (eng. *gene ontology, GO*) za biološke procese i molekularne funkcije koje njihovi produkti obavljaju, kao i deo ćelije u kojima se aktivnost odvija. Uzimajući u obzir veliki broj uočenih različitih bioloških procesa, analiza je sužena samo na one koji su detektovani kod pet ili više genskih modela (Tabela 16). Produkti najvećeg broja gena učestvuju u regulaciji transkripcije, vezujući se za specifične DNK sekvence, promotore, pomoću jednog ili više DNK-vezujućih domena. Jednako brojni su bili i geni koji su učestvovali u procesima transporta, unutar ćelije, ali i između ćelije i spoljašnje sredine. Ovi geni su obavljali prenos različitih katjona, jona kalcijuma, abscisinske kiseline, oligopeptida, aminokiselina, vode i drugih molekula, koristeći transportni sistem membrana, specifične membranske transportere ili transportne vezikule. Prilično zastupljeni su bili geni koji se aktiviraju prilikom odgovora na abiotičke i biotičke faktore, uključujući povećanu koncentraciju soli, vodonik-peroksida, povišene temperature i intenzitet svetlosti, viruse. Osim njih, uočeni su i geni koji su učestvovali u procesima metabolizma ugljenih hidrata (glikolize) kao i metabolizma lipida i masnih kiselina (Tabela 16).

Tabela 16. GO domeni za biološke procese u selektivno značajnim regionima genoma

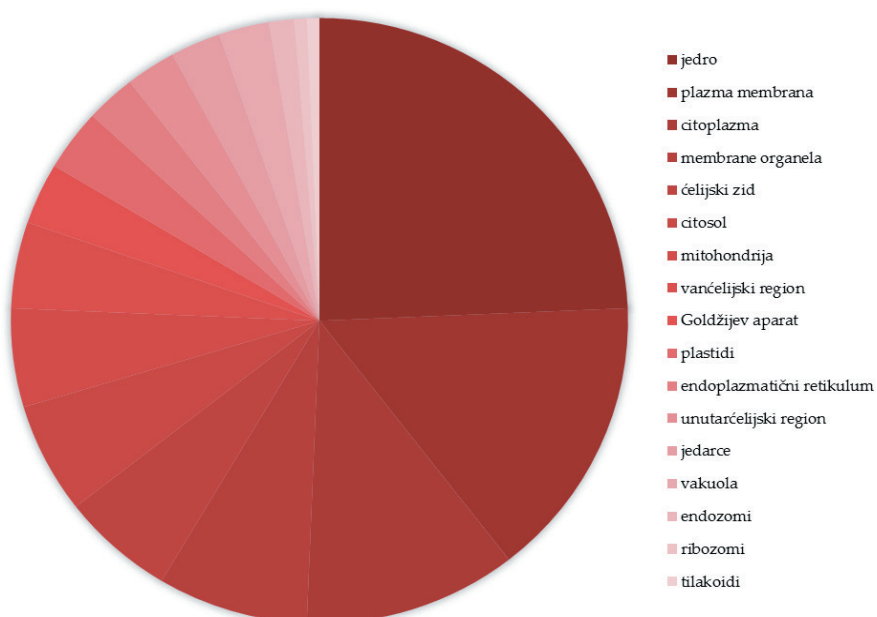
Biološki proces	GO broj	Broj gena
regulacija transkripcije	0006355	8
transport	0006810, 0009750, 0016192, 0055085	8
odgovor na visoke količine soli	0009651	7
odgovor na povišenu temperaturu	0009408	6
odgovor na visok intenzitet svetlosti	0009615	6
glikoliza	0006096	6
metabolizam lipida	0006629, 0042631	6
odgovor na vodonik peroksid	0009644	5
odgovor na viruse	0042542	5

Slični rezultati su dobijeni analizom GO domena za molekularne funkcije, koja je ukazala da je najveći broj gena imao najverovatnije regulatornu ulogu vezujući se za nukleinske kiseline i obavljajući funkciju transkripcionih faktora (Slika 24).



Slika 24. Distribucija gena na osnovu molekularne funkcije koju obavljaju

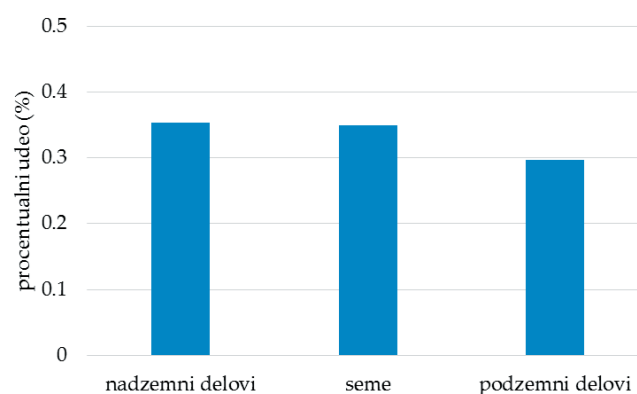
Takođe, veliki broj proizvoda identifikovanih gena su imali katalitičku ulogu, pri čemu su naročito brojni bili enzimi protein kinaze, transferaze i hidrolaze. Takođe su *GO* za molekularne funkcije genskih produkata potvrdili da je značajan deo učestvovao u procesima transporta, specifičnim za pojedine supstrate, kao i u regulaciji transporta (Slika 24).



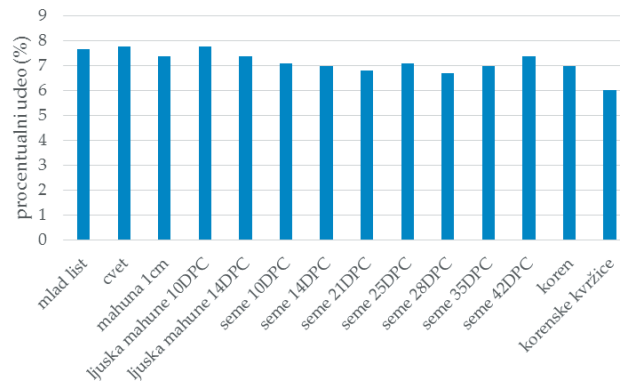
Slika 25. Raspodela genskih modela na osnovu dela ćelija u kojem obavljaju aktivnost

Kada se posmatra distribucija gena prema organelama ili delu ćelije u kojem genski produkti obavljaju aktivnost, može se uočiti da je najveći deo bio lociran u jedru (24,3%), potom plazma membrani (15,1%), citoplazmi (11,1%) i membranama organela (7,9%) (Slika 25). Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa uočenim molekularnim funkcijama genskih produkata. Kako su geni imali pretežno ulogu u procesima regulacije transkripcije i translacije, očekivano je najveći broj bio lokalizovan u jedru ćelije. Takođe, transportna aktivnost genskih modela je bila potkrepljena činjenicom da je veliki broj svoju funkciju obavljao u plazma membrani i membranama organela (Slika 25).

U bazi podataka SoyBase su, koristeći podatke o sekvenciranju transkriptoma soje (Severin i sar., 2010; SoyBase, 2015), radi ilustrativnog prikaza, analizirani profili genske ekspresije svih potencijalnih gena koji se nalaze u identifikovanim selektivno značajnim regionima genoma soje. Praćena je prisutnost transkripata u različitim delovima biljke (Slika 26). Kada se posmatra transkripciona aktivnost, uočava se podjednaka prisutnost genskih produkata kako u nadzemnim delovima biljke, tako i u semenu, sa 35%, dok je nešto manja prisutnost transkripata ovog skupa gena bila uočena u podzemnim delovima biljke sa 30% (Slika 26). Ukoliko se analizira ekspresija gena u različitim organima ili fazama razvoja, uočene razlike su takođe bile neznatne (Slika 27). Odnosno, produkti ispitivanih gena su bili skoro podjednako zastupljeni u svim ispitivanim organima, kao i kroz različite faze razvoja.



Slika 26. Zastupljenost genskih transkripata u različitim delovima biljke



Slika 27. Prisutnost produkata ekspresija gena koji se nalaze u selektivno značajnim regionima genoma, u različitim organima ili fazama razvoja (DPC-dani posle cvetanja)

7. DISKUSIJA

Populaciono-genetičke analize gajenih biljnih vrsta su ukazale na značaj poznavanja promena u genomu koje nastaju tokom procesa oplemenjivanja (Vigorous i sar., 2002; Yamasaki i sar., 2005; Olsen i sar., 2006; Kane i Rieseberg, 2007; Li i sar., 2013). Sa povećanjem količine genomskih podataka, stvorena je osnova za primenu ovih saznanja u oplemenjivačkim programima, te je poznavanje promena na nivou genoma dobilo i praktičan značaj (Morrell i sar., 2011). Rezultati ovog istraživanja su opisali nivo genetičkog diverziteta i diferencijacije predačke i elitne populacije soje, ukazujući na specifične regione genoma na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Osim toga, povezivanje identifikovanih regiona i potencijalnih svojstava koja determinišu, dalo je uvid na pravce delovanja selekcije, omogućivši bolje sagledavanje adaptacije soje na specifične agroklimatske uslove. Tokom istraživanja su uz upotrebu molekularnih markera, mikrosatelita, primenjeni principi populacione genetike i fenomen genetičkog stopiranja. Prednost upotrebe mikrosatelita za „*hitchhiking*“ mapiranje kod soje, predstavlja visok stepen korelacije ($R^2 = 0,83$) koji je uočen između distribucije ovih molekularnih markera i gena (Ott i sar., 2011), na osnovu čega se pretpostavlja i njihova povezanost sa genima favorizovanim tokom selekcije (Harr i sar., 2002). Osim toga, visoka stopa mutacija mikrosatelita omogućava uočavanje razlika između blisko srodnih populacija, kakve su analizirane populacije soje (Kane i Rieseberg, 2007; Teschke i sar., 2008).

Tokom oplemenjivanja soje je korišćen mali broj osnivačkih genotipova, što je dovelo do sužavanja njene genetičke osnove, kao i do sličnosti i smanjenog diverziteta elitnih sorti (Gizlice i sar., 1994). Sličnost je naročito naglašena kod sorti koje vode poreklo sa istog geografskog područja, ukazujući na izolaciju usled udaljenosti ili na paralelnu selekciju u sličnim agroklimatskim uslovima, praćenu smanjenim protokom gena (Li i sar., 2013). Uska genetička osnova je potvrđena i analizom pedigreea elitnih genotipova koji se gaje na području centralne i istočne Evrope. Samo pet predačkih genotipova (Mandarin, Capital, Richland, Strain No. 18 i Mukden) su činili 50% pedigreea, dok je 15 genotipova predačke populacije obuhvatilo 80% pedigreea (Slika 2). Analizom pedigreea izuzetno prinosne kanadske elitne sorte, OAC Bayfield, kao i elitnih sorti koje su potom nastale od nje, utvrđeno je da je genetička osnova modernih sorti sa područja ovog dela Severne Amerike

bila još uža, pri čemu je pet sorti, uključujući Lincoln, Mandarin, Richland, AK Harrow i Mukden činilo oko 65% pedigreea (Gizlice i sar., 1994; Grainger, 2012). Iznete činjenice ukazuju da manji broj genotipova može obuhvatiti dovoljan nivo genetičkog diverziteta vrste, što implicira da je broj sorti koji se koristio za „hitchhiking“ mapiranje bio odgovarajući. Takođe, odabir manjeg broja genotipova koji obuhvataju veliki deo (86%) pedigreea elitne populacije, svakako predstavlja praktičnije rešenje od analize svih poznatih predačkih genotipova.

7.1. GENETIČKA VARIJABILNOST, STRUKTURA I DIFERENCIJACIJA

POPULACIJA SOJE

Za sagledavanje efekata oplemenjivanja na genom soje i posledica delovanja selekcije, praćena je genetička varijabilnost predačke i elitne populacije. Iako je ispitivana elitna populacija bila skoro dvostruko veća od predačke, u predačkoj populaciji je uočen veći broj alela, ukazujući na smanjenje diverziteta u elitnoj populaciji. Tokom dugogodišnjeg oplemenjivanja, u elitnoj populaciji se izgubio u proseku jedan alel po lokusu, pri čemu je u pojedinim lokusima ovaj broj bio mnogo veći. Uzevši u obzir razlike u veličini analiziranih populacija, ispitani su i dodatni parametri koji ne zavise od veličine uzorka. Tom prilikom su parametri „allelic richness“ (R_s) i efektivan broj alela po lokusu (N_e) pokazali slične rezultate kao i broj alela po lokusu, potvrđujući da je tokom oplemenjivanja došlo do približnog gubitka prosečno jednog alela po lokusu (Tabela 3). Kod sorti i linija koje su najvećim delom poticale iz nezavisnih oplemenjivačkih programa zemalja jugoistočne Evrope (Hrvatska, Srbija, Makedonija, Bugarska), a koje su takođe nastale od sorti sa prostora Severne Amerike (Ristova i sar., 2010), uočeno je prosečno 4 alela po SSR lokusu, što predstavlja sličnu vrednost kao u populacijama analiziranim u ovom istraživanju. Ispitivanjem diverziteta mikrosatelita kod sorti i oplemenjivačkih linija soje sa prostora zapadne Evrope nastalih oplemenjivanjem u periodu od 1950. do 2000. godine, kao i severnoameričkih sorti od kojih je većina bila zastupljena i u ovom istraživanju, vrednosti parametra „allelic richness“ su ukazale da je tokom oplemenjivanja izgubljeno u proseku 0,6 alela po lokusu (Tavaud-Pirra i sar., 2009). Diverzitet zapadno-evropske germplazme soje je bio nešto viši u odnosu na elitnu populaciju sa prostora centralne i istočne Evrope, tako da je

Rs iznosio prosečno 4,2 alela po lokusu. Navedena istraživanja su ukazala na približno sličan nivo erozije diverziteta na prostorima centralne i istočne Evrope u odnosu na ostatak kontinenta.

Poređenjem predačkih i elitnih genotipova soje u Kanadi, utvrđeno je da je tokom nastanka elitne populacije zadržano 89% genetičkog diveziteta predačke populacije (Grainger, 2012). Ovo je potvrđeno i rezultatima dobijenim resekvenciranjem genotipova soje, koji su ukazali da je kod modernih sorti zadržan veliki udeo genetičkog diverziteta (83,8%-87,8%) lokalnih populacija (Li i sar., 2013), što ukazuje da je tokom nastanka modernih sorti predačka populacija prošla kroz genetičko usko grlo umerene jačine. Nasuprot ovome, usko grlo do kojeg je došlo tokom domestikacije soje, dovelo je do značajnog gubitka diverziteta, kada je varijabilnost nukleotida smanjena 50% (Hyten i sar., 2006). Praćenjem uticaja oplemenjivanja na genetičku varijabilnost kod drugih gajenih biljnih vrsta, takođe su uočene veoma male razlike u diverzitetu između gajenih sorti i lokalnih populacija (Xu i sar., 2011; Hufford i sar., 2012; Cavanagh i sar., 2013), što je, kako se smatra, najverovatnije postignuto delovanjem selekcije na ograničen broj lokusa u genomu (Cavanagh i sar., 2013). Slično je ustanovljeno i u ovom istraživanju, prilikom kojeg su vrednosti očekivane heterozigotnosti, kao mere genetičkog diverziteta, ukazale da je elitna populacija zadržala veći deo (86%) varijabilnosti predačke populacije soje (Slika 5). Činjenica da je predačka populacija obuhvatala genotipove različitih dužina vegetacije, tako da su grupe zrenja varirale u opsegu od 000 do VII, dok su se u elitnoj populaciji kretale od 000 do III, navodi na zaključak da je u elitnoj populaciji soje zadržana izuzetno visoka stopa varijabilnosti. Iako je tokom istraživanja uočeno da su moderne sorte soje zadržale veći deo diverziteta, rezultati neparametrijskog Mann-Whitney testa su pokazali da su uočene razlike između predačke i elitne populacije soje za sve parametre genetičke varijabilnosti (N_a , N_e , R_s , H_e i PIC) ipak bile značajno različite ($p < 0,01$) (Tabela 4). Navedene razlike su bile uočljive i na osnovu broja jedinstvenih alela u populaciji, pri čemu je u predačkoj populaciji uočeno čak oko 2,5 puta više jedinstvenih alela u odnosu na elitnu populaciju. Najveći broj jedinstvenih alela u predačkoj populaciji (18) je uočen kod genotipova Manitoba Brown i CNS, dok je u elitnoj populaciji genotip Gracia imao najveći broj jedinstvenih alela (5) (Slika 4). Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa grupama zrenja kojima pripadaju uočeni genotipovi, pri čemu su Manitoba Brown i Gracia sorte veoma ranih grupa zrenja (00 i 000), dok CNS

sazreva kasnije i pripada VII grupi zrenja. Kod predačkih genotipova kanadske elitne sorte OAC Bayfield je takođe uočen najveći broj jedinstvenih alela kod sorte CNS, koja se genetički najviše razlikovala od ostalih ispitivanih genotipova (Grainger i Rajcan, 2014).

Pored brojnih drugih faktora, poznato je da efikasnost „hitchhiking“ mapiranja umnogome zavisi od genetičke strukture analiziranih populacija (Casa i sar., 2005). Isti faktor je ograničavajući i kod asocijativnog mapiranja (Brescaglio i Sorrells, 2006). Prednost analize genetičke strukture populacija koja je primenjena u ovom istraživanju, a koja je implementirana u softveru STRUCTURE (Pritchard i sar., 2000), je njegova sposobnost da proceni udeo genoma jedinke koji pripada svakoj ispitivanoj populaciji („admixture“ model) (Sim i sar., 2011). Prilikom analize rezultata je uočeno nepodudaranje podele analiziranih genotipova na predačku i elitnu populaciju na osnovu pedigrea i na osnovu rezultata dobijenih analizom genetičke strukture populacija (Slika 8). Naime, pojedini genotipovi koji su prema pedigreu pripadali predačkoj populaciji, na osnovu rezultata dobijenih analizom strukture populacija su bili pridruženi klasteru koji je najvećim delom sadržao elitne genotipove. Nasuprot ovome, svi genotipovi elitne populacije (izuzevši genotip Gracia) su nakon analize strukture populacija bili svrstani u klaster sačinjen od elitnih sorti. Dobijeni rezultati su najverovatnije uzrokovani pozitivnom korelacijom koja je uočena između roditeljskog doprinosa predačkih genotipova elitnoj populaciji i koeficijenta pripadnosti genetičkom klasteru (Q) (Tomicic i sar., 2014). Odnosno, pojedini predački genotipovi, kao što je Mandarin, su tokom oplemenjivanja i nastanka elitnih sorti češće korišćeni kao roditelji na prostorima centralne i istočne Evrope (roditeljski doprinos elitnoj populaciji je bio 12%) i stoga su genetički sličniji elitnim genotipovima (koeficijent pripadnosti elitnoj grupi je 0,99). Pored Mandarina i drugi genotipovi (Capital, Richland, Strain No. 18) koji su činili genetičku osnovu analiziranih sorti centralne i istočne Evrope su bili raspoređeni u elitnu populaciju. Uticaj pedigrea na rezultate analize genetičke strukture populacija ukazuje da je genetička struktura zapravo oslikavala istoriju oplemenjivanja soje. Slično ovome, sorte soje koje vode poreklo iz jugoistočne Evrope, Kanade i Brazila i koje su imale slično poreklo na osnovu pedigrea, su bile raspodeljene u iste genetičke klasterne (Ristova i sar., 2010; Priolli i sar., 2013; Grainger i Rajcan, 2014). Analizom populacione strukture divljih srodnika soje, lokalnih populacija i modernih sorti, takođe su identifikovana dva klastera, od kojih su se u jednom pretežno nalazili genotipovi vrste *Glycine soja*, a u drugom genotipovi vrste *Glycine*

max, sa preklapanjem pojedinih uzoraka (Li i sar., 2014b). Sličnu genetičku strukturu populacija su imali i genotipovi sorti i lokalnih populacija pšenice, što je takođe najverovatnije bilo uslovljeno čestim korišćenjem određenih lokalnih populacija u oplemenjivačkim programima pšenice (Wang i sar., 2012; Cavanagh i sar., 2013).

Potvrda uočene genetičke strukture populacija dobijena je i analizom glavnih koordinata (PCoA), na osnovu koje se takođe nije moglo izvršiti jasno grupisanje analiziranih genotipova soje u odvojene klastere (Slika 11). Iako se kod navedenih analiza za izračunavanja koriste različiti parametri, pri čemu su za utvrđivanje genetičke strukture populacija primenjene frekvencije alela, dok je prilikom PCoA korišćena genetička udaljenost između analiziranih genotipova, obe procedure su ukazale na delimično preklapanje uzoraka predačke i elitne populacije. Kod pojedinih genotipova predačke populacije (CNS, Mandarin, Colfax) je primećena veća genetička udaljenost u poređenju sa svim ostalim ispitivanim genotipovima. U predačkoj populaciji je generalno uočena veća genetička udaljenost između genotipova, dok su genotipovi elitne populacije u najvećoj meri bili međusobno blisko locirani u koordinatnom sistemu. U PCo analizi, kao i na osnovu genetičke strukture populacija, genotip Gracia je u najvećoj meri odstupao od distribucije elitnih sorti i bio genetički sličniji predačkim genotipovima. Uočena preklapanja između uzoraka su najverovatnije uslovlila i nizak nivo genetičke diferencijacije između populacija, na šta je ukazala prosečna vrednost indeksa fiksacije, *Fst* (Wright, 1978). Kod više od polovine lokusa je uočena mala diferencijacija između populacija, srednji nivo diferencijacije između populacija je bio uočen kod oko 40% lokusa, a kod tri lokusa je *Fst* vrednost ukazivala na visoki stepen diferencijacije (Slika 10). Rezultati analize molekularne varijanse su takođe pokazali da se mali procenat genetičkog variranja (9%) mogao pripisati međupopulacionim razlikama, a istovremeno je uvrđeno da je najveći udeo ukupne genetičke varijabilnosti, oko 81%, pripadao variranju genotipova unutar ispitivanih populacija (Tabela 6). Interesantno je da je skoro identična vrednost indeksa fiksacije, kao u ovom istraživanju, uočena i između predačkih i elitnih genotipova soje u Kanadi (Grainger, 2012). Za razliku od njih, populaciono-genetička diferencijacija između germplazme soje sa prostora Zapadne Evrope i severnoameričkih genotipova bila je višestruko manja (0,025) (Tavaud-Pirra i sar., 2009), što je bilo u saglasnosti i sa manjim razlikama u genetičkom

diverzitetu, u odnosu na razlike koje su uočene između predačkih i elitnih populacija ovog istraživanja.

7.2. IDENTIFIKACIJA LOKUSA NA KOJE JE DELOVALA SELEKCIJA

Za identifikaciju selektivno važnih genomskih regiona tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope su primenjena dva empirijska pristupa kao i dva pristupa koja su se zasnivala na demografskim modelima. Korišćeni testovi su identifikovali lokalno smanjenje diverziteta u okviru genoma i povećanje populacione diferencijacije u lokusima na koje je delovala selekcija. Efekti selekcije su se, u zavisnosti od primenjene metode, mogli uočiti na različitom broju SSR lokusa u genomu soje, od 5,9% do 17,6% (Slika 18).

Smanjenje varijabilnosti mikrosatelitskih lokusa, kada su u bliskoj vezi sa genima favorizovanim selekcijom, predstavlja osnovu \lnRV i \lnRH testova koji su primenjeni za identifikovanje selektivno značajnih lokusa. Svaki mikrosatelitski lokus ima specifičnu stopu mutacija (Di Rienzo i sar., 1994), što otežava direktno poređenje varijabilnosti različitih lokusa. Međutim, primenom empirijskog pristupa koji poredi varijabilnost mikrosatelitskih lokusa između dve populacije, mogu se identifikovati lokusi čiji je gubitak diverziteta veći od očekivanog, u uslovima kada selekcija ne deluje (Schlötterer, 2002; Schlötterer i Dieringer, 2005). Ovi testovi imaju najveću moć detekcije neposredno nakon delovanja selekcije, kada je broj alela u populaciji veoma smanjen, a sa povećanjem diverziteta datog lokusa tokom vremena moć detekcije opada (Casa i sar., 2005). Navedena činjenica ukazuje da su \lnRH i \lnRV testovi pogodni za identifikaciju gena koji su favorizovani oplemenjivanjem i na koje je selekcija delovala u relativno bliskoj prošlosti (Schlötterer, 2002; Kauer i sar., 2003).

\lnRH i \lnRV vrednosti selektivno neutralnih lokusa imaju normalnu raspodelu, dok različiti demografski događaji mogu uticati na promenu oblika njihove distribucije. Tako, prilikom prolaska populacije kroz genetičko usko grlo, kod velikog broja mikrosatelita dolazi do smanjenja varijabilnosti, što dovodi do promene distribucije ovih vrednosti (Storz, 2005). S obzirom da su nestandardizovane \lnRH i \lnRV vrednosti u ovom istraživanju imale normalnu raspodelu (Slika 12), može se zaključiti da je delovanje selekcije bilo ograničeno na manji broj analiziranih lokusa. Od svih primenjenih pristupa za identifikaciju selektivno

značajnih lokusa, lnRH i lnRV testovi su dali najmanji broj kandidata, pri čemu su oba testa identifikovala po četiri SSR ($p < 0,05$) (5,88%) (Slika 13), dok je zajedničkom primenom detektovano ukupno tri kandidata za balansnu i četiri za pozitivnu selekciju. Približno slične vrednosti su dobijene i korišćenjem lnRH testa prilikom ispitivanja kanadske germplazme soje, gde je od ukupnog broja ispitivanih lokusa 7% bilo selektivno značajno (Grainger, 2012). Smatra se da lnRH test ima značajno veću moć za identifikovanje delovanja selekcije od lnRV testa, jer u velikoj meri ne zavisi od stope mutacija mikrosatelita i demografske istorije populacije (Schlötterer, 2002; Schlötterer i Dieringer, 2005), što je i potvrđeno poređenjem sa rezultatima drugih pristupa. Svi kandidat lokusi koji su detektovani primenom lnRH testa su potvrđeni i drugim metodama. Tom prilikom je takođe uočeno da je lokus Satt295 na osnovu lnRH testa bio kandidat za delovanje balansne selekcije, prilikom koje se održava genetička varijabilnost u populaciji, dok su ga svi drugi pristupi definisali kao kandidata za pozitivnu selekciju. Posmatranjem frekvencija alela ovog lokusa u ispitivanim populacijama (Slika 14d) uočeno je da je alel koji je u predačkoj populaciji bio prisutan u niskoj frekvenciji bio favorizovan selekcijom, što je dovelo do povećanja njegove učestalosti u elitnoj populaciji, sa istovremenim smanjenjem učestalosti najfrekventnijeg alela predačke populacije. Ovo je dovelo do skorog izjednačenja učestalosti navedenih alela, što je verovatno uticalo da lnRH test prepozna selekciju koja je delovala kao balansnu. Od četiri lokusa potvrđena lnRV testom, samo je Satt557 potvrđen primenom drugih metoda. Ovaj lokus je ujedno bio i jedini koga su detektovala oba, lnRH i lnRV, testa. Uzevši u obzir da lnRH i lnRV testovi za izražavanje varijabilnosti koriste različite parametre, između rezultata testova se ne mora nužno očekivati visok stepen korelacije (Schlötterer i Dieringer, 2005).

Kako tokom domestikacije i oplemenjivanja selekcija deluje na specifične, značajne lokuse, dolazi do fiksacije različitih alela, kao i do povećanja stepena genetičke diferencijacije između populacija u ovim lokusima. Usled ovoga se indeks fiksacije (F_{st}), kao mera genetičke diferenciranosti populacija, može koristiti i za uočavanje genetičkih razlika do kojih je došlo tokom navednih procesa, odnosno može poslužiti kao indikator delovanja selekcije (Nielsen, 2005). Naime, lokusi koji pokazuju mnogo veći nivo populacione diferencijacije, u odnosu na druge lokuse, predstavljaju potencijalne kandidate za delovanje selekcije. Proporcionalno sa udaljenosti od mesta na koje je delovala selekcija, odnosno sa

povećanjem stope rekombinacija, opada i vrednost indeksa fiksacije (Charlesworth i sar., 1997), te će markeri koji su na manjoj genetičkoj udaljenosti od gena koji su bili zahvaćeni delovanjem selekcije imati slične vrednosti kao i regioni na koje je selekcija delovala. Korišćenjem ovog parametra kod divljih i gajenih genotipova soje, identifikovano je približno 5% regiona genoma koji su imali ili izuzetno visoke ($>0,45$) ili izuzetno niske ($<0,02$) *Fst* vrednosti, te predstavljaju potencijalne regione na koje je delovala selekcija tokom domestikacije (Lam i sar., 2010). Takođe, analizom divljih predaka i modernih sorti soje, u regionima SSR lokusa koji su se nalazili u blizini lokusa od agronomskog značaja uočen je visok stepen genetičke diferencijacije, ukazujući na delovanje selekcije tokom domestikacije i oplemenjivanja soje u ovim regionima, dok je sasvim suprotno uočeno kod lokusa koji nisu bili u vezi sa navedenim osobinama (Jun i sar., 2011). Genotipizacijom divljih srodnika, lokalnih populacija i elitnih sorti soje, koristeći mikročip SoySNP50K, ukazano je na regione sa veoma visokim vrednostima indeksa fiksacije ($\geq 0,6$), koji su najverovatnije nosili lokuse na koje je delovala selekcija tokom domestikacije ili dugogodišnjeg oplemenjivanja soje u Severnoj Americi. Koristeći ovu kritičnu vrednost, uočeno je oko 15 puta više regiona koji su bili selektivno značajni tokom domestikacije. Tom prilikom, uočena prosečna *Fst* vrednost između *G. soja* i lokalnih populacija je iznosila oko 0,3, dok je između lokalnih i elitnih populacija bila manja od 0,1 (Song i sar., 2013). *Fst* parametar je uspešno primenjen za identifikovanje lokusa na koje je delovala selekcija i kod drugih gajenih kultura, uključujući suncokret (Chapman i sar., 2008), kukuruz (Vigouroux i sar., 2002), pšenicu (Ren i sar., 2013) i šećernu trsku (Casa i sar., 2005).

Ispitivanjem delovanja selekcije tokom domestikacije soje, *Fst* vrednosti selektivno značajnih SNP lokusa su bile 3,3-7,4 puta veće od prosečne vrednosti svih ispitivanih lokusa (Li i sar., 2014b). Prilikom poređenja predačkih i modernih sorti soje, sa ciljem ispitivanja efekta oplemenjivanja, očekuje se manja diferencijacija, usled većeg stepena srodstva između populacija. Stoga su lokusi koji imaju dvostruko veću vrednost parametra *Fst* u poređenju sa prosečnom vrednosti kod soje identifikovani kao selektivno značajni (Grainger, 2012). Koristeći ovaj kriterijum i empirijsku distribuciju *Fst* vrednosti, prilikom analize predačkih i elitnih genotipova soje sa prostora centralne i istočne Evrope u ovom istraživanju, uočeno je sedam selektivno značajnih lokusa (10,3%) (Slika 15). Jedino su lokusi koji su identifikovani kao kandidati za delovanje pozitivne selekcije primenom *Fst* pristupa,

svi bili potvrđeni i drugim primenjenim metodama (Slika 18). Primenom istog kriterijuma u agroklimatskim uslovima Kanade je identifikovan skoro jednak procenat selektivno značajnih lokusa (Grainger, 2012).

Prilikom primene empirijskog pristupa koji se zasniva na povećanju populacione diferencijacije ne postoji statistički precizna granica za identifikovanje lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija (Sim i sar., 2011). Usled toga su primenjeni i drugi testovi koji se zasnivaju na povećanju populacione diferencijacije, ali pomoću kojih se mogu uspostaviti objektivni kriterijumi koji će ukazati na delovanje selekcije. Ovakvi statistički pristupi su implementirani u programe Lositan i Arlequin, a za detekciju selektivno značajnih regiona, kao kriterijume istovremeno koriste povećanje populacione diferencijacije i smanjenje genetičke varijabilnosti. Oba pristupa primenjuju pretpostavke o populacionoj strukturi korišćenjem različitih demografskih modela. Na osnovu pristupa koji koristi ostrvski model migracija u programu Lositan (Beaumont i Nichols, 1996) je identifikovan najveći broj lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija, 17,6% ($p < 0,05$) (Slika 16). Od ukupnog broja uočenih lokusa, 75% je bilo potvrđeno drugim metodama. Kada je isti demografski model primenjen u programu Arlequin ($p < 0,05$) detektovano je četiri puta manje lokusa koji su bili pod uticajem pozitivne selekcije, kao i dva lokusa na koje je delovala balansna selekcija (Slika 17a). Rezultati istog modela migracija dobijeni pomoću različitih programa su se podudarali samo za deo lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija. S obzirom da za identifikaciju lokusa na koje je delovala balansna selekcija primenom fenomena genetičkog stopiranja postoje brojna metodološka i teorijska ograničenja (Excoffier i sar., 2009), kao i da su detektovani primenom samo jednog pristupa, postoji velika mogućnost da ovi identifikovani lokusi predstavljaju lažno pozitivne rezultate.

Uzevši u obzir da je prilikom identifikacije selektivno značajnih lokusa poželjna primena različitih demografskih pristupa, u cilju nalaženja modela koji najrealnije opisuje demografsku istoriju ispitivanih populacija (Nielsen, 2005), kao i da primena hijerarhijskog modela migracija može smanjiti broj lažno pozitivnih rezultata u poređenju sa nehijerarhijskim modelima (Excoffier i sar., 2009), obavljene su dodatne analize koristeći i ovaj demografski model. Hijerarhijski ostrvski model, u programu Arlequin, je identifikovao manji broj lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija, u odnosu na nehijerarhijski pristup primenjen u programu Lositan (Slika 17b). Svi lokusi kandidati za pozitivnu selekciju

dobijeni putem analiza u programu Arlequin, su bili potvrđeni i primenom nehijerarhijskog pristupa u programu Lositan, a većina lokusa koji su detektovani primenom oba pristupa su bili identifikovani i nekom od ostalih metoda. Na osnovu hijerarhijskog modela migracija je takođe identifikovano četiri lokusa na koje je delovala balansna selekcija, koja može biti uzrokovana adaptacijama na različite abiotičke ili biotičke faktore. Mikrosatelitski lokusi koji su bili kandidati za balansnu selekciju primenom različitih demografskih modela u programu Arlequin se nisu podudarili (Slika 17). Svi pozitivni kandidat lokusi na osnovu rezultata dobijenih u programu Arlequin su bili potvrđeni i drugim pristupima, dok ni jedan lokus koji je bio pod uticajem balansne selekcije nije bio potvrđen korišćenjem drugih testova, te verovatno predstavljaju lažno pozitivne rezultate.

Primenom najmanje jedne metode (lnRH i lnRV test, *Fst*, demografski pristupi u programima Lositan i Arlequin), delovanje selekcije je uočeno na ukupno 28% lokusa. Kao posledica oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima Kanade utvrđeno je da je selekcija delovala na ukupno 14% lokusa, primenom samo lnRH i *Fst* testova (Grainger, 2012). Kada se posmatraju rezultati samo ovih pristupa, prilikom istraživanja adaptacija na uslove centralne i istočne Evrope, uočeno je 12% selektivno značajnih lokusa. Kombinovanom primenom više metoda koje identifikuju različite promene u genomu nakon delovanja selekcije, može se uticati na smanjenje broja lažno pozitivnih rezultata. Smatra se da lokusi koji su potvrđeni u najmanje dve primenjene analize predstavljaju jake kandidate, dok lokusi detektovani samo jednom metodom predstavljaju verovatno lažno pozitivne rezultate (Schlötterer i Dieringer, 2005; Bonin i sar., 2006). Primenom najmanje dva testa je detektovano 13% SSR lokusa koji predstavljaju jake kandidate za delovanje selekcije tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope, što ide u korist hipotezi delovanja selekcije na ograničenom broju lokusa širom genoma (Cavanagh i sar., 2013). Visok stepen preklapanja je uočen između rezultata dobijenih primenom *Fst* parametra, ostrvskog modela migracija u programu Lositan i lnRH testa, a u manjoj meri sa rezultatima hijerarhijskog modela migracija u programu Arlequin (Slika 18). S obzirom da lnRH test sa jedne strane, i *Fst* i program Lositan sa druge strane, detektuju sasvim različite promene u genomu uzrokovane delovanjem selekcije, na ovaj način je pojačan i potkrepljen status identifikovanih pozitivnih kandidat lokusa. Primenom svih metoda, samo dva lokusa, Satt357 i Satt557, su potvrđeni kao kandidati za delovanje pozitivne selekcije.

Nepodudarnost rezultata dobijenih različitim pristupima bi mogla biti uzrokovana i činjenicom da različite metode identifikuju lokuse na različitim nivoima delovanja selekcije (Horton i sar., 2012). Postoji potencijalna mogućnost smanjenja broja primenjenih testova u cilju efikasnije i brže identifikacije lokusa kandidata za delovanje selekcije. Kada bi se primenila samo dva pristupa koji se zasnivaju na genetičkoj diferencijaciji populacija, empirijski i demografski model koji koristi program Lositan, mogao bi se identifikovati najveći broj lokusa kandidata za delovanje pozitivne selekcije. Međutim, važno je naglasiti da bi se ovo moglo primeniti isključivo na strukturu populacija koja je utvđena u ovom istraživanju.

Nakon identifikacije lokusa kandidata za delovanje selekcije, pristupilo se analizi raspodele favorizovanih alela ovih lokusa. Rezultati su ukazali da je najmanji broj favorizovanih alela u selektivno važnim lokusima kod genotipova elitne populacije (Slika 19b) uočen kod sorti Gracia, Senka, NS Kaća i Fortuna. Sve navedene sorte pripadaju ili veoma ranim ili kasnim grupama zrenja naših agroklimatskih uslova, pri čemu su Gracia, NS Kaća i Fortuna veoma rane sorte, dok je Senka kasnostasna i pripada III grupi zrenja. Nasuprot ovome, maksimalan broj favorizovanih alela, koji su sadržali pojedini genotipovi elitne populacije, ne mora nužno da ukazuje da su ove sorte i najprinosnije. Neophodne su dalje analize koje bi ispitale i dodatan uticaj genetičkog okruženja. Osim toga, uzevši u obzir da je analiziran samo određeni broj lokusa i regiona, potrebno je proširiti analizu obuhvatanjem većeg dela genoma soje, kako bi se mogla izvesti pouzdanija i preciznija korelacija između prinosa i broja favorizovanih alela. Dobijeni rezultati su svakako ukazali na značajnu akumulaciju poželjnih alela u elitnoj populaciji u odnosu na predačku (Slika 19) čime je istovremeno, osim uticaja modernog oplemenjivanja, potvrđena pouzdanost „hitchhiking“ mapiranja za identifikaciju selektivno značajnih lokusa i alela. Moderne sorte koje nemaju favorizovane alele u identifikovanim selektivno značajnim lokusima (Slika 19b), ukazuju na dalju mogućnost unapređenja agronomski značajnih osobina koristeći pristupe molekularnog oplemenjivanja (Wang i sar., 2012).

U neposrednoj blizini pojedinih lokusa koji su detektovani kao selektivno značajni, nalazili su se i drugi analizirani markeri koji nisu bili potvrđeni ni jednim pristupom. U datim regionima genoma je utvrđena frekvencija genetičkih rekombinacija, poređenjem udaljenosti markera na fizičkoj i genetičkoj mapi, dok je vrednost za cele hromosome

preuzeta iz Ott i sar. (2011). Uočeno je da je na marker Satt295 na hromozomu 1 delovala selekcija, dok marker Satt383 koji se nalazi na rastojanju od 1,35 cM nije okarakterisan kao selektivno značajan ni jednim primenjenim testom. U ovom regionu hromozoma je uočena veoma visoka stopa rekombinacija na osnovu literaturnih podataka, čak četiri puta veća od prosečne stope za ceo hromozom 1. Slično je uočeno i kod markera Satt557 i Satt319, koji su udaljeni 1,23 cM, a u ovom regionu je uočena dvostruko veća vrednost rekombinacija u odnosu na ceo hromozom 6. Takođe, postoji mogućnost da je smanjena stopa rekombinacija u regionu koji je ograničen markerima Satt567 i Satt435, na hromozomu 7, razlog uočavanja "potpisa" koji je ostavila selekcija kod oba molekularna markera.

Prilikom ispitivanja efekta oplemenjivanja na genomu soje, poređenjem sekvenci genoma lokalnih populacija i modernih sorti, identifikovani su selektivno značajni regioni ukupne dužine 14.462 kbp, što je ukazalo da je selekcija tokom modernog oplemenjivanja zahvatila 1,52% genoma, odnosno oko 2% svih gena i oko 4-5% anotiranih gena soje (Lam i sar., 2010; Schmutz i sar., 2010; Li i sar., 2013). Takođe, analizom diverziteta germplazme kukuruza različitog porekla i primenom različitih markera potvrđeno je delovanje selekcije na 2-5% gena tokom domestikacije i oplemenjivanja (Vigorous i sar., 2002; Wright i sar., 2005; Hufford i sar., 2012; Jiao i sar., 2012; van Heerwaarden i sar., 2012). Analizom predačkih i elitnih sorti soje koje su adaptirane na agroklimatske uslove Kanade, primenom *Fst* i *lnRH* testa je identifikovano ukupno 3,3% kandidat lokusa na koje je delovala pozitivna selekcija (Grainger, 2012). Analizom adaptacija na agroklimatske uslove Kanade i centralne i istočne Evrope, uočena su dva zajednička lokusa, Satt357 i Satt557, na koje je delovala selekcija (Tomicic i sar., 2014). Oba lokusa se nalaze na hromozomu 6 (oko 112 cM i 151 cM), a u regionu centralne i istočne Evrope su bili identifikovani kao selektivno značajni svim primenjenim metodama. U blizini markera Satt557 se nalazi gen *E1* koji ima ključnu ulogu u regulisanju vremena cvetanja i sazrevanja kod soje (Xia i sar., 2012). Pretpostavlja se da je *E1* protein represor cvetanja, koji obavlja svoju funkciju vezujući se za molekul DNK ili kao transkripcioni faktor (Xia i sar., 2012). Kod soje su vreme cvetanja i sazrevanja važne kvantitativne osobine, čija kontrola predstavlja osnovu stvaranja sorti adaptiranih na šire geografske regione, čime određuje granice njenog uzgajanja (Li i sar., 2013). Osim navedenog, smatra se da vreme sazrevanja određuje produktivnost soje (Jiang i sar., 2014). Sve navedeno ukazuje da *E1* gen ima značajan uticaj na adaptaciju na agroklimatske uslove

područja centralne i istočne Evrope. Favorizovani alel lokusa Satt557 je uočen kod svih ispitivanih elitnih genotipova, izuzev kod sorti Julija, Gracia i NS Kaća. Činjenica da su vrlo rane sorte, dovodi do pretpostavke da su identifikovani aleli mikrosatelita Satt557 u sortama Julija, Gracia i NS Kaća u vezi sa recesivnim alelima E1 gena. Smatra se da od svih gena koji determinišu cvetanje i sazrevanje kod soje, E1 ima najveći efekat (Xia i sar., 2012). Ipak, alelna varijabilnost ostalih E gena, naročito E1, E3 i E4, može obezbediti značajnu genetičku plastičnost koja će omogućiti gajenje soje na širim geografskim područjima (Cober i sar., 1996), što ukazuje na značaj utvrđivanja vremena cvetanja i sazrevanja kod genotipova soje u odnosu na fotoperiod. Preliminarna analiza distribucije gena za dužinu vegetacije je obavljena na pojedinim genotipovima predačke i elitne populacije soje koji su analizirani u ovom istraživanju (Đorđević i sar., 2012; Tomičić i sar., 2013).

Tokom ranijih istraživanja je takođe utvrđeno da je tokom domestikacije i oplemenjivanja soje selekcija delovala na lokuse koji su determinisali vreme cvetanja (Kim i sar., 2012). Poređenjem lokalnih populacija i elitnih sorti soje uočeno je da je selekcija tokom oplemenjivanja delovala na dva gena koja su bila u vezi sa ovim svojstvom, GmCRY1a i Glyma10g42090.1 (Li i sar., 2013). GmCRY1a je glavni regulator cvetanja u zavisnosti od dužine fotoperioda kod soje i ima važnu ulogu u određivanju distribucije soje prema geografskoj širini, dok gen Glyma10g42090.1 predstavlja homolog gena CONSTANS, za koji je utvrđeno da pripada grupi transkripcionih faktora koji imaju važnu ulogu u kontrolisanju vremena cvetanja. Među regionima na koje je delovala selekcija tokom domestikacije i oplemenjivanja kod drugih gajenih biljnih vrsta, često su se nalazili geni uključeni u regulaciju vremena cvetanja (Chapman i sar., 2008; Blackman i sar., 2011; De La Fuente i sar., 2012; Cavanagh i sar., 2013; Varshney i sar., 2013).

U cilju potvrde delovanja pozitivne selekcije, obavljena je analiza genetičkog diverziteta predačke i elitne populacije na osnovu dva skupa lokusa, selektivno značajnih i neutralnih. Tom prilikom u predačkoj populaciji nisu uočene značajne razlike u genetičkom diverzitetu, na osnovu različitih kategorija lokusa, pozitivnih i neutralnih (MW test, $p < 0,01$). Međutim, nakon delovanja selekcije, genetički diverzitet elitne populacije na osnovu selektivno značajnih lokusa je bio značajno niži u poređenju sa diverzitetom koji su imali neutralni lokusi. Istovremeno, *Fst* vrednost selektivno značajnih lokusa je ukazala na umeren do visok nivo diferencijacije između populacija, dok su neutralni lokusi ukazali na

tek neznatnu genetičku diferencijaciju populacija (Tabela 9). Kada se iz analize isključe lokusi na koje je delovala selekcija, uočava se smanjenje vrednosti *Fst* parametra za oko 26%. Potvrda povećanja populacione diferencijacije dobijena je i analizom molekularne varijanse, na osnovu koje je uočeno povećanje diferencijacije između populacija sa 6% na osnovu neutralnih lokusa, na 27% kada se posmatraju samo selektivno značajni lokusi (Slika 20). AMOVA je ukazala da se povećanje varijanse između populacija odvijalo na uštrb smanjenja varijanse između jedinki unutar populacije, što bi moglo ukazivati na određeni stepen homogenizacije, kada se posmatraju pozitivni kandidat lokusi. Slično smanjenje populacione diferencijacije, koje se uočava posmatranjem samo selektivno neutralnih lokusa, odnosno, povećanje *Fst* vrednosti, kao i procenta genetičkih varijacija između grupa kada se u analizu uvrste lokusi na koje je delovala selekcija, je uočeno i prilikom analiza diferencijacije populacija lana (Soto-Cerda i Cloutier, 2013), kao i ispitivanjem adaptacija vrste morskog puža *Haliotis midae* duž obala Južne Afrike (Rhode, 2013). U drugom navedenom primeru, razlike između grupa na osnovu AMOVA su povećane skoro tri puta u odnosu na analizu samo selektivno neutralnih lokusa, što je verovatno bilo u vezi sa delovanjem selekcije koja omogućava adaptacije na lokalne uslove životne sredine (Rhode, 2013).

Isključivanje selektivno značajnih lokusa iz daljih analiza, odnosno analiza varijabilnosti samo neutralnih lokusa su neophodne, ukoliko je cilj populaciono-genetičkih istraživanja utvrđivanje delovanja različitih demografskih efekata (Soto-Cerda i Cloutier, 2013). Tako, na primer, kada se ispituje genetička struktura populacija pomoću mikrosatelitskih markera, pretpostavlja se selektivna neutralnost analiziranih lokusa. S obzirom da su rezultati ovog istraživanja ukazali da su se među ispitivanim mikrosatelitima nalazili i lokusi na koje je delovala selekcija, genetička struktura populacija soje je ispitana i analizom samo selektivno neutralnih lokusa. Tada je utvrđeno da nije došlo do značajnih promena u genetičkoj strukturi analiziranih populacija, najverovatnije usled činjenice da je selekcija delovala na manji broj markera (Slika 21).

U pojedinim slučajevima i drugi demografski faktori utiču na smanjenje genetičke varijabilnosti populacije, uzrokujući efekte slične delovanju selekcije. Nakon naglog smanjenja veličine populacije, samo mali broj genotipova doprinose osnivanju nove populacije, čime se varijabilnost u znatnoj meri smanjuje, odnosno populacija prolazi kroz genetičko usko grlo. Navedeni demografski efekat se usled specifičnog delovanja može

pogrešno identifikovati kao delovanje selekcije (Vigouroux i sar., 2002; Yamasaki i sar., 2007). Ispitivanjem varijabilnosti na nivou genoma se mogu razlikovati efekti koji deluju na pojedinačne lokuse, kao što su rekombinacije, mutacije i selekcija, od demografskih pojava čiji se efekat uočava širom genoma (usko grlo, efekat osnivača, stratifikacija populacije, migracije) (Luikart i sar., 2003). Shodno tome, ukoliko se i kod neutralnih i pozitivnih lokusa uoči smanjenje genetičke varijabilnosti, može se pretpostaviti da je populacija prošla kroz usko grlo (Mäkinen i sar., 2008), a identifikovani kandidati za delovanje selekcije predstavljaju verovatno lažno pozitivne rezultate. Iz ovog razloga, ali i činjenice da testovi koji detektuju selektivno značajne lokuse ne uzimaju dovoljno u obzir demografske efekte (Excoffier i sar., 2009), analiziran je prolazak populacija kroz genetičko usko grlo. Ispitivanjem neutralnih lokusa predačke i elitne populacije, kao i pozitivnih kandidat lokusa predačke populacije, nije uočeno statistički značajno povećanje heterozigotnosti u poređenju sa ravnotežnom vrednošću ovog parametra, a koje je karakteristično za populacije koje su prošle kroz usko grlo (Tabela 12). Međutim, u regionima pozitivnih kandidat lokusa elitne populacije uočeno je jasno smanjenje lokalne efektivne veličine populacije, što je ukazivalo na prolazak elitne populacije kroz usko grlo. Oba primenjena testa (*Sign* i *Wilcoxon*) su pokazala statistički značajno smanjenje genetičkog diverziteta pozitivnih lokusa elitne populacije, što upravo predstavlja jaku potvrdu delovanja selekcije tokom oplemenjivanja soje u specifičnim agroklimatskim uslovima. U ranijim istraživanjima je utvrđeno da *Wilcoxon* test ima najjaču statističku moć kada analiza obuhvata manje od 20 lokusa, što je bio slučaj sa skupom pozitivnih kandidat lokusa u ovom istraživanju (Piry i sar., 1999).

Kod mnogih gajenih biljnih vrsta je, kao posledica domestikacije i oplemenjivanja, uočeno značajno povećanje gametskog disekvilibriruma kod modernih sorti u odnosu na divlje srodnike (Wright i sar., 2005; Cavanagh i sar., 2013; Mace i sar., 2013). Kod soje je generalno uočen visok nivo vezanosti gena i kod divljih predaka i gajenih sorti, koji je bio značajno veći u poređenju sa svim do sada ispitivanim biljnim vrstama (gajena soja: ~150 kb; divlja soja: ~75 kb; kukuruz: <1 kb; divlji i gajeni pirinač: <1 kb; *Arabidopsis thaliana*: ~3-4 kb) (Lam i sar., 2010), a što je najverovatnije uzrokovano činjenicom da je soja samooplodna biljna vrsta. Stepem gametskog disekvilibriruma se može interpretirati i kao mera diverziteta haplotipa u populaciji (Li i sar., 2013). Ispitivanjem adaptacija soje na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope, u elitnoj populaciji je konstantovan skoro dvostruko veći broj

statistički značajnih asocijacija u odnosu na predačku populaciju (kriterijumi $p < 0,001$; $r^2 > 0,1$ i $p < 0,001$) (Tabela 13). Takođe je konstantovano da su parovi lokusa elitne populacije kod kojih su primećene najviše vrednosti parametara gametskog disekvilibriruma uključivali kandidat lokuse na koje je delovala selekcija. Posmatranjem odnosa jačine gametskog disekvilibriruma i udaljenosti lokusa, u predačkoj populaciji je uočen blagi nagib krive korelacije između ovih vrednosti (Slika 22), što je verovatno uzrokovano činjenicom da je populacija dostigla bazni nivo disekvilibriruma (Brescaglio i Sorrells, 2006). Za razliku od ovoga, konstantovano povećanje nivoa gametskog disekvilibriruma u elitnoj populaciji je najverovatnije uzrokovano osnivačkim efektom, prilikom nastajanja visokoprinosa linija, i predstavlja rezultat delovanja selekcije. Slično povećanje gametskog disekvilibriruma kod elitnih sorti soje u odnosu na lokalne populacije i severnoameričke pretke, uzrokovano najverovatnije delovanjem selekcije, je uočeno i u drugim istraživanjima (Hyten i sar., 2007; Li i sar., 2013). Smatra se da, osim delovanja selekcije i prolaska kroz usko grlo, drugi faktor koji je mogao doprineti povećanju gametskog disekvilibriruma kod soje predstavlja različita osetljivost na fotoperiod (Hyten i sar., 2007).

7.3. INTERPRETACIJA SELEKTIVNO ZNAČAJNIH KANDIDAT LOKUSA

Uzevši u obzir da „*hitchhiking*“ mapiranje ne pruža direktan uvid u fenotipove koje determinišu geni na koje je delovala selekcija, njegova efikasnost se može povećati korišćenjem podataka koji su dobijeni drugim pristupima mapiranja (Blackman i sar., 2011). Poređenjem genomskih regiona lokusa kandidata, sa lokacijama prethodno mapiranih QTL-ova, kao i poređenjem sličnosti sekvence gena kandidata i gena poznate funkcije, može se steći uvid u osobine na koje je delovanje selekcije bilo usmereno (Chapman i sar., 2008; Li i sar., 2013). Zajednička primena biparentalnog-QTL mapiranja i populaciono-genetičkih analiza je naročito pogodna za ispitivanje fenotipske divergencije koja predstavlja odgovor na selekciju. Dok biparentalno-QTL mapiranje identifikuje regione genoma u kojima se nalaze geni odgovorni za uočene fenotipske razlike, populaciono-genetički pristup ispituje ulogu selekcije prilikom nastanka ovih promena (Burke i sar., 2005). Karakterizacija lokusa na koje je delovala selekcija ima veliki značaj, jer oni mogu predstavljati važne regione za buduće smerove oplemenjivanja. Funkcionalna istraživanja, koja povezuju regione genoma

na koje je delovala selekcija sa fenotipom koji determinišu najbolje ukazuju na značaj datih lokusa tokom oplemenjivanja i istovremeno predstavljaju najbolju potvrdu delovanja selekcije u identifikovanim regionima.

QTL-ovi mapirani drugim pristupima bi mogli poslužiti i prilikom sužavanja selektivno značajnih regiona sve do gena kandidata, ukoliko se pretpostavi da regioni na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja nose gene čija funkcija je u vezi sa odgovarajućim QTL-ovima (Fawcett i sar., 2013). Na osnovu mapiranih QTL-ova pirinča koji su se nalazili u regionima smanjenog diverziteta, a koji su determinisali svojstva koja se jasno razlikuju između gajenog i divljeg pirinča, identifikovani su potencijalni kandidat geni koji se nalaze u ovim regionima. Naročita pažnja je usmerena na gene koji imaju različite varijante kod gajenih i divljih genotipova, a koje uključuju nesinonimne tačkaste mutacije, insercije ili delecije, mutacije koje dovode do gubitka funkcije gena ili mutacije u regulatornim regionima koje utiču na ekspresiju gena (Fawcett i sar., 2013). Tako su, na primer, u regionu zahvaćenom selekcijom tokom domestikacije pirinča uočeni QTL-ovi koji se odnose na dužinu osja, rasipanje i dormanciju semena. Pretpostavilo se da bi transkripcioni faktori mogli biti jaki kandidati za delovanje selekcije u ovom regionu, jer mogu uticati na kontrolu više osobina. U okviru ovog regiona genoma je uočeno više gena, od kojih je nekoliko kodiralo transkripcione faktore koji su imali različite genetičke varijante kod divljih srodnika i gajenog pirinča, te su predstavljali kandidate za delovanje selekcije.

Genetička mapa soje broji više od 1700 mapiranih QTL-ova koji determinišu preko 140 agronomski značajnih osobina (SoyBase, 2015). Na osnovu genetičke mape soje, u neposrednoj blizini, ukupne širine 5 cM, lokusa koji su identifikovani „*hitchhiking*“ mapiranjem je identifikovano ukupno 264 lokusa za kvantitativne osobine, koji su pružili uvid u potencijalna svojstva favorizovana tokom oplemenjivanja. Kada je posmatrana isključivo direktna povezanost selektivno značajnih mikrosatelitskih lokusa i mapirajućeg intervala lokusa za kvantitativne osobine, identifikovano je ukupno 55 QTL-ova. Bitno je naglasiti da je rezolucija biparentalnog-QTL mapiranja često veoma mala, što smanjuje preciznost genomske lokacije mapiranih QTL-ova i time otežava njihovo pouzdano povezivanje sa selektivno značajnim regionima (Fawcett i sar., 2013). I pored ove činjenice, sve identifikovane kategorije QTL-ova u ovom istraživanju su odgovarale fenotipskim svojstvima na koje je najverovatnije delovala pozitivna selekcija tokom oplemenjivanja soje,

pri čemu je većina QTL-ova imala direktan ili indirektan uticaj na povećanje prinosa kod elitnih genotipova. Sama činjenica da su identifikovani selektivno značajni lokusi bili locirani u blizini prethodno mapiranih QTL-ova, je ohrabrujuća za nastavak primene pristupa „*hitchhiking*“ mapiranja.

U regionima zahvaćenim delovanjem selekcije najzastupljeniji su bili lokusi koji su determinisali reproduktivni razvoj biljke. Smatra se da se regulisanjem vremena cvetanja i sazrevanja, odnosno variranjem svojstava koja determinišu reproduktivni razvoj, može u velikoj meri ostvariti povećanje prinosa semena (Egli i sar., 1981). Takođe, rezultatima ovog istraživanja je potvrđeno da se prilikom oplemenjivanja težilo stvaranju uniformnih sorti i ujednačenih biljaka, jer su delovanjem selekcije bili zahvaćeni lokusi koji su determinisali osobine kao što su visina biljke, otpornost na poleganje, intenzitet grananja i ujednačenost vremena cvetanja, što sve predstavljaju svojstva na osnovu kojih se uobičajeno obavlja selekcija biljaka tokom oplemenjivanja. U selektivno važnim regionima su takođe identifikovani lokusi koji su determinisali sadržaj funkcionalnih komponenti semena soje kao što su izoflavoni i njihove bioaktivne forme daidzein, genistein i glicitein, kao i oligosaharidi i tokoferoli. S obzirom na značaj fitoestrogena izoflavona, usled povoljnog uticaja na zdravlje ljudi, kao i značaj tokoferola, koji imaju ulogu antioksidanata povećavajući oksidativnu stabilnost i nutritivnu vrednost ulja soje, postoji pojačano interesovanje za povećanjem sadržaja ovih veoma važnih materija prilikom oplemenjivanja soje (Cui i sar., 2004). Osim navedenih, identifikovan je i znatan udeo QTL-ova koji su uticali na sadržaj ulja, povećanje sadržaja ukupnog proteina, proteina određenog aminokiselinskog sastava i na izbalansiran odnos proteina i ulja. Kada se uzme u obzir dobro poznata kolokalizacija QTL-ova za ulje i prinos, odnosno komponente prinosa (Wilcox i Guodong, 1997), rezultati istraživanja ukazuju da je selekcija prilikom povećanja prinosa, delovala istovremeno na povećanje frekvencije alela lokusa koji su determinisali sadržaj ulja. Osim navedenih, veliki broj lokusa je imao direktan uticaj na prinos, određujući masu semena po jedinici površine ili broj zrna na jedinici površine. Takođe, uočeni su i lokusi koji su determinisali pojedine komponente prinosa kao što su broj mahuna, broj zrna po mahuni, masa 1000 zrna, broj oplodjenih jajnih ćelija koje završe razvoj do semena (eng. *seed set*), kao i lokusi koji su uticali na opadanje (abortivnost) cvetova. Sve navedeno je nagoveštavalo da je tokom dosadašnjeg oplemenjivanja soje u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, selekcija

najvećim delom bila usmerena ka lokusima koji su determinisali visok i stabilan prinos. Pored toga, intenzivna veštačka selekcija je imala za cilj i stvaranje sorti koje su adaptabilne na agroklimatske uslove gajenja, u centralnoj i istočnoj Evropi. Smatra se da biljke koje su bolje adaptirane na određene agroklimatske uslove u odnosu na druge jedinice u istim uslovima, ostvaruju veći prinos i imaju bolji kvalitet semena (Cooper i Byth, 1996). Kod genotipova soje koji su gajeni u različitim agroklimatskim uslovima (Kanada, SAD i Kina) su uočene razlike u prinosu, za koje je potvrđeno da su predstavljale posledicu variranja različitih agronomskih svojstava, prilikom čega su uočene značajne korelacije između prinosa biljke i vremena sazrevanja, otpornosti na poleganje, visine biljke, težine semena, kao i sadržaja proteina i ulja (Rossi i sar., 2013). Potvrda ovih rezultata je dobijena i u ovom istraživanju koje je analiziralo adaptacije na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope i tokom kojeg je utvrđeno da su selektivno značajni lokusi imali uticaj na sve osobine koje su prethodno navedene kao značajne determinante prinosa. Drugi identifikovani QTL-ovi, koji su determinisali otpornost prema insektima, nematodama i gljivama, bi mogli da ukažu da je selekcija delovala na otpornost prema biotičkim faktorima. Uzevši u obzir da se tokom selekcije prvo odbacuju bolesne, neotporne biljke, jasno je da se na lokuse koji determinišu otpornost prema biotičkim faktorima svakako utiče, na direktan ili indirektan način (Grainger, 2012). Geni koji određuju otpornost prema različitim vrstama stresa mogu doprineti povećanoj adaptabilnosti soje na promene agroklimatskih uslova (Ren i sar., 2013).

Većina QTL-ova koji su uticali na prinos semena su se nalazili u istim regionima kao i lokusi za pojedine agronomski značajne osobine (Rossi i sar., 2013). Iz tog razloga, posebno su značajni klasteri QTL-ova koji se javljaju u regionu određenog markera i ukazuju na genomske regione sa plejotropnim efektima (Grainger, 2012). Naime, fenotipske korelacije i QTL analize su ukazale da svojstva koja su u vezi sa prinosom teže da se grupišu u genomu i imaju plejotropni efekat (Liu i sar., 2011). U regionu mikrosatelitskog lokusa Satt557 nalazi se čak 125 lokusa, dok su u okolini lokusa Satt357 uočena samo tri lokusa za kvantitativne osobine.

Kvantitativne osobine, kao što su prinos i komponente prinosa, su kontrolisane većim brojem gena, na koje utiču višestruke interakcije sa drugim genima kao i interakcije između gena i spoljašnje sredine. Kako su pod jakim uticajem faktora spoljašnje sredine, tokom analize ovih lokusa se ispituju svojstva različitih genotipova u različitim

agroklimatskim uslovima (Rossi i sar., 2013). Poređenjem rezultata dobijenih u različitim agroklimatskim uslovima, moguće je utvrđivanje stabilnosti lokusa za kvantitativna svojstva, što će dati važne smernice za dalje oplemenjivanje soje, sa ciljem stvaranja sorti visokog i stabilnog prinosa. Lokusi koji su stabilni u različitim agroklimatskim uslovima predstavljaju univerzalne QTL-ove koji imaju veliki značaj za oplemenjivanje (Fasoula i sar., 2004). Takvi su lokusi Satt357 i Satt557, na koje je selekcija delovala tokom adaptacija na agroklimatske uslove Kanade, kao i centralne i istočne Evrope. Osim toga, s obzirom da su u elitnu populaciju uključene priznate sorte, koje su analizirane na više lokaliteta i tokom više godina, a tokom testiranja su birane kao veoma prinodne, može se pretpostaviti da su identifikovani selektivno značajni markeri zapravo potvrđeni u različitim uslovima spoljašnje sredine, odnosno kao stabilni na prostoru centralne i istočne Evrope (Tomicic i sar., 2014).

Tokom adaptacija na agroklimatske uslove Kanade, lokusima na koje je delovala selekcija su determinisane slične osobine kao i na našim prostorima, a najzastupljeniji su bili lokusi u vezi sa povećanjem prinosa, povećanjem količine proteina i ulja u semenu i lokusi koji su određivali otpornost prema SDS (eng. *sudden death sindrome*) (Grainger, 2012). Iako su osobine na koje je delovala selekcija bile veoma slične, veći deo selektivno značajnih regiona genoma se nije podudaraao u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope i severne Amerike, te se može pretpostaviti da su QTL-ovi koji se nalaze u ovim regionima agroklimatski specifični. Prilikom ispitivanja delovanja selekcije na elitne linije kukuruza u različitim agroklimatskim uslovima, Kine i SAD, je takođe uočen veoma mali broj zajedničkih regiona (Jiao i sar., 2012). Potencijalan uzrok ove pojave je delovanje različitih selektivnih pritisaka u lokalnim agroklimatskim uslovima, te kao posledica jake interakcije između genotipa i spoljašnje sredine, selekcija deluje na različite lokuse. Kao rezultat duge izloženosti prirodnoj ili veštačkoj selekciji u određenim uslovima dolazi do velikog povećanja frekvencije alela specifičnih QTL-ova. Jak efekat interakcije između genotipa i spoljašnje sredine (GxE) je još izraženiji kod adaptivno značajnih QTL-ova, što na kraju dovodi do populacione struktuiranosti i do razlika u frekvencijama alela između populacija (Tomicic i sar., 2014). Osim ovoga, činjenica da su agronomski značajna svojstva najčešće kvantitativni karakteri, determinisani pomoću većeg broja lokusa, ostavlja prostor selekciji da usmeri delovanje na različite regione u genomu.

Sužavanje genetičke osnove elitnih genotipova soje, kao i delovanje intenzivne veštačke selekcije, doveli su do smanjenja genetičkog diverziteta, čime je usporen porast prinosa i dostignut plato u oplemenjivanju soje, kao i povećana osetljivost na brojne bolesti i štetočine (Hyten i sar., 2006). Regioni genoma smanjene genetičke varijabilnosti koji nose agroklimatski specifične QTL-ove bi, iz ovog razloga, mogli biti interesantni za buduće povećanje diverziteta, što bi potencijalno dovelo i do porasta prinosa. Moderne sorte, koje se genetički razlikuju od lokalno adaptiranih genotipova, predstavljaju potencijalan izvor poželjnih alela, koji se mogu iskoristiti za povećanje genetičke varijabilnosti u oplemenjivačkim programima, dovodeći do većeg i održivijeg prinosa (Concibido i sar., 2003; Rossi i sar., 2013). Pored uvođenja novih alela, drugi potencijalni mehanizam za povećanje diverziteta, na nivou haplotipova, predstavljaju rekombinacije. Utvrđeno je da je kod najprinosnijih rekombinantnih inbred linija (RIL) soje bio uočen najveći broj genetičkih rekombinacija (Stefaniak i sar., 2006).

Primenom brojnih bioinformatičkih alatki i baza podataka mogu se identifikovati geni koji su uključeni u proces adaptacija, predvideti njihove funkcije ili utvrditi nivo ekspresije, prilikom čega bi se mogla potencijalno utvrditi molekularno-genetička osnova složenih agronomskih svojstava. S obzirom da selekcija može uticati i na genomske regione koji se nalaze na većoj udaljenosti od gena na koji je delovala (Palaisa i sar., 2004), za identifikaciju selektivno značajnih kandidat gena u ovom istraživanju su analizirani regioni ukupne širine 200 kbp, sa selektivno značajnim lokusom u središtu posmatranog intervala. Regioni na koje je delovala selekcija mogu sadržati desetine ili čak više od stotinu gena, što je naročito izraženo kod samooplodnih vrsta kakva je soja (Lam i sar., 2010). Smatra se da se geni na koje je delovala selekcija kod soje najverovatnije nalaze u klasterima u određenim regionima genoma, slično distribuciji QTL-ova koji su bili značajni tokom domestikacije (Li i sar., 2013).

Poznato je da su pericentromerni regioni kod soje mesta siromašna genima, sa niskom stopom rekombinacija. Nasuprot ovome, čak 78% gena je locirano na krajevima hromozoma, u peritelomernim regionima, koji osim što su najbogatiji genima, predstavljaju delove genoma sa najvećom stopom rekombinacija (Schmutz i sar., 2010; Du i sar., 2012), što je potvrđeno i u ovom istraživanju. Uočen broj gena je u potpunosti odgovarao poziciji mikrosatelitskih lokusa na hromozomu. Naime, u regionima markera Satt295, Satt464,

Satt557 i Satt583 koji su locirani u pericentromernim regionima hromozoma je uočeno samo četiri ili pet gena, dok su regioni mikrosatelitskih lokusa Satt234, Satt357, Satt567 i Satt651, koji se nalaze na krajevima hromozoma, nosili više od deset gena (Tabela 15). Jedini izuzetak je predstavljao region lokusa Satt435, koji se nalazio u pericentromernom delu, a u kojem je uočen veći broj gena u odnosu na druge regione ovog dela hromozoma. U pericentromernim regionima su identifikovani pojedini QTL-ovi i geni koji determinišu agronomski značajne osobine, kao što je, na primer, masa zrna kod pirinča (Li i sar., 2004). Postoje teorijske pretpostavke da bi povećanje diverziteta gena pericentromernog regiona soje, koji je smanjen usled niske stope rekombinacija, moglo predstavljati način prevazilaženja barijere u povećanju prinosa (Li i sar., 2014a). Sekvence centromerne DNK su uglavnom veoma varijabilne, uprkos ključnoj ulozi koju imaju tokom ćelijske deobe prilikom pravilnog vezivanja hromozoma za niti deobnog vretena i povezivanja sestrinskih hromatida, te se smatra se da epigenetički mehanizmi regulišu njihovo funkcionisanje (Rošić i sar., 2014). Ova činjenica bi mogla da ukazuje da pomenuto povećanje varijabilnosti gena pericentromernih regiona soje ne bi trebalo da utiče negativno na održanje stabilnosti ćelijske deobe.

Karakterizacija selektivno značajnih regiona genoma, bila je omogućena korišćenjem standardizovanog GO rečnika, koji se primenjuje za opisivanje bioloških procesa u kojima geni učestvuju, molekularnih funkcija koje obavljaju, kao i dela ćelije u kojima se aktivnost odvija. Funkcionalna anotacija gena i genskih produkata na osnovu GO domena je ukazala da su regulatorni geni bili glavna meta selekcije, pri čemu je najveći broj kandidata obavljao funkciju vezujući se za molekule DNK, proteine ili delujući kao transkripcioni faktori (Slika 24). U skladu sa navednim molekularnim funkcijama i biološkim procesima u kojima su učestvovali, najveći broj genskih produkata bio je aktivan u jedru ćelije (26%). S obzirom da su selektivno značajni geni imali najverovatnije regulatornu ulogu, u ovoj fazi istraživanja se ne mogu nedvosmisleno povezati sa fenotipom koji determinišu. U prethodnim istraživanjima su, koristeći matriks model, obavljene simulacije delovanja selekcije, u konstantnim uslovima životne sredine na svojstva kontrolisna većim brojem lokusa, koji se međusobno regulišu pozitivnim ili negativnim interakcijama. Tom prilikom je, slično kao i u ovom istraživanju, uočen povećan uticaj delovanja selekcije na gene koji imaju regulatornu ulogu (Rhoné i sar., 2011).

Osim navedenih, uočen je i određeni udeo gena čiji produkti su delovali kao enzimi (kinaze, transferaze i hidrolaze) učestvujući u procesima katalize, kao i geni odgovorni za procese transporta, unutar ćelije i između ćelije i spoljašnje sredine (Slike 24). Produkti ovih gena su svoju funkciju obavljali najverovatnije u plazma membrani (13%) i membranama organela (8%) (Slika 25). Utvrđeno je da specijalizovani membranski transporteri kod biljaka imaju značajnu ulogu u povećanju prinosa, sadržaja hranljivih materija, kao i otpornosti prema različitim abiotičkim i biotičkim faktorima (Schroeder i sar., 2013). Ispitivanjem je uočen znatan broj gena koji su se nalazili u selektivno značajnim regionima, a čija je molekularna funkcija bila u vezi sa transportom i vezivanjem jona kalcijuma (Ca^{2+}). Kalcijum ima centralnu ulogu kao sekundarni glasnik u procesima signalne transdukcije kod svih eukariota (Clapham, 1995). Poznato je da različiti abiotički i biotički faktori, kao što su suša, povećan salinitet, ekstremne temperature, patogeni, oksidativni stres kao i mnogi drugi, dovode do promene unutarćelijske koncentracije kalcijuma kao i aktivacije Ca^{2+} -posredovanog signalinga (Dodd i sar., 2010). Jon Ca^{2+} deluje vezujući se za proteine kalmoduline, a potom nastali kompleks utiče na različite puteve signalne transdukcije, uključujući regulaciju aktivnosti enzima, jonskih kanala i pumpi, kao i regulaciju ekspresije gena. Na ovaj način abiotički i biotički stres može dovesti do različitih ćelijskih odgovora (Poovaiah i sar., 2013). Osim uloge sekundarnog glasnika, kalcijum takođe ima važnu ulogu prilikom regulisanja procesa obrade proteina, u sekretornim putevima. Osim navedenih, uočena je i prilična zastupljenost drugih gena koji se aktiviraju prilikom delovanja brojnih abiotičkih stresova. Takođe, uočeni su i geni koji su učestvovali u procesima metabolizma lipida. Kada su uzme u obzir dobro poznata pozitivna korelacija koja postoji između prinosa i sadržaja ulja kod soje, delovanje selekcije na navedena svojstva je u potpunosti očekivano. U pojedinim regionima sveta, u kojima postoji povećana potražnja za biljnim uljem, kao na primer u SAD, selekcija je tokom domestikacije i oplemenjivanja soje bila usmerena i ka stvaranju sorti bogatih lipidima (Zhao i sar., 2008; Li i sar., 2013).

Ovim istraživanjem su potvrđeni i rezultati resekvenciranja više genoma soje, kada je uočeno da je najveći broj gena na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja učestvovao u procesima regulacije, delujući kao transkripcioni faktori. U navedenom istraživanju, sledeći po brojnosti su bili geni koji su učestvovali u procesima transporta i katabolizma, a potom i metabolizma lipida (Li i sar., 2013). Takođe, ispitivanjem delovanja selekcije na

genom drugih gajenih biljnih vrsta uočeno je da su selektivno važni geni veoma često imali ulogu u regulaciji transkripcije, pripadajući različitim familijama transkripcionih faktora. Osim toga, veliki broj gena je obavljao funkcije enzima, kinaze i transferaze, ili su učestvovali u odgovoru na abiotičke i biotičke stresove (Chapman i sar., 2008; Qin i sar., 2014).

Analizom ekspresije identifikovanih gena kandidata na osnovu podataka dostupnih u bazi podataka SoyBase, uočene su neznatne razlike u transkripcionoj aktivnosti u različitim delovima biljke, pri čemu je zapaženo da su produkti navednog skupa gena bili podjednako zastupljeni u nadzemnim delovima biljke i u semenu, dok je nešto manja aktivnost bila primećena u korenu. Svakako, radi dobijanja preciznijih i informativnijih rezultata, analizu ekspresije je potrebno obaviti isključivo na ispitivanom materijalu, poređenjem produkata ekspresije između predačkih i elitnih genotiova soje. Sličnim pristupom je kod kukuruza analizom gena na koje je delovala selekcija tokom domestikacije i oplemenjivanja uočeno značajno povećanje ekspresije u klip u odnosu na druge delove biljke, što je bilo u saglasnosti sa delovanjem snažne selekcije na morfologiju klipa tokom domestikacije (Hufford i sar., 2007).

Uprkos činjenici da funkcionalna karakterizacija gena nije potpuna sve dok se ne potvrdi u eksperimentalnim uslovima, informacije dobijene na osnovu bioinformatičkih analiza bi mogle uticati na usmeravanje narednih empirijskih istraživanja. Dalja ispitivanja, čiji je krajnji cilj povezivanje varijabilnosti na molekularnom nivou sa fenotipskim razlikama, bi se mogla takođe sprovesti korišćenjem drugih pristupa mapiranja, analizom ekspresije gena, pristupima resekvenciranja, transgenim eksperimentima ili primenom metode „*gene-knock-out*“ (Li i sar., 2013).

Dobijeni rezultati su upotpunili znanja o genetičkoj kolekciji soje koja čini germplazmu u programima oplemenjivanja u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Tokom istraživanja su identifikovani lokusi kao i specifični aleli koji su favorizovani tokom selekcije u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Dobijeni rezultati bi se potencijalno mogli iskoristiti za olakšano uvođenje poželjnih alela prilikom stvaranja novih elitnih sorti, odnosno ovo istraživanje bi moglo doprineti razvoju molekularnog oplemenjivanja i marker-asistirane selekcije, kao trenutno najperspektivnijeg načina selekcije. Na ovaj način bi bio omogućen odabir genotipova soje koji su nosioci poželjnih

alelnih varijanti koje utiču na povećanje prinosa, i koji će usled toga biti roditeljski kandidati za dalja ukrštanja, u cilju stvaranja novih sorti sa poboljšanim genetičkim potencijalom za prinos.

8. ZAKLJUČAK

U radu su sagledani efekti oplemenjivanja soje poređenjem predačkih genotipova, koji vode poreklo sa prostora Evrope i Severne Amerike, i elitnih genotipova koji se gaje ili su se gajili na području centralne i istočne Evrope, a koji su nastali u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Kvantifikovanje genetičkog diverziteta u pojedinačnim populacijama soje i analiza populaciono-genetičke diferencijacije su obavljani na osnovu ispitivanja 68 mikrosatelitskih lokusa, kao selektivno neutralnih regiona genoma. Tokom istraživanja su ispunjeni svi postavljeni ciljevi, koji su doveli do sledećih zaključaka:

1. Elitne sorte soje koje se gaje na području centralne i istočne Evrope imaju usku genetičku osnovu, uslovljeno činjenicom da je samo pet predačkih genotipova (Mandarin, Capital, Richland, Strain No. 18 i Mukden), koji vode poreklo sa prostora Severne Amerike, obuhvatalo 50% pedigrea elitne populacije.
2. Odabrani mikrosatelitski lokusi su primenljivi molekularni markeri za analize genetičkog diverziteta i diferencijacije populacija soje, koji su bez obzira na blisku srodnost populacija ispoljili adekvatan nivo polimorfnosti, što je omogućilo poređenje predačkih i elitnih genotipova soje. Detektovano je smanjenje genetičkog diverziteta elitnih sorti koje se gaje na području centralne i istočne Evrope u odnosu na predačku populaciju, nastalo kao posledica dugogodišnjeg oplemenjivanja. Svi analizirani populaciono-genetički parametri imali su statistički značajno veće srednje vrednosti u predačkoj u odnosu na elitnu populaciju.
3. Ispitivani genotipovi soje su struktuirani u dva genetička klastera, što se nije u potpunosti podudaralo sa podelom genotipova na osnovu pedigrea. Naime, genetička struktura populacija je oslikavala istoriju oplemenjivanja soje, tako da su dobijeni rezultati uzrokovani pozitivnom korelacijom između roditeljskog doprinosa predačkih genotipova elitnoj populaciji i koeficijenta pripadnosti genetičkom klasteru. Ni analiza glavnih koordinata, PCoA nije omogućila jasno grupisanje analiziranih genotipova. Uočena preklapanja između uzoraka uslovljavaju nizak nivo međupopulacione genetičke diferencijacije, na šta je ukazala niska prosečna vrednost indeksa fiksacije F_{st} (0,058) kao i analiza molekularne varijanse, koja

ukazuje da variranje između populacija iznosi 9%, dok se najveći udeo ukupne genetičke varijabilnosti uočava unutar ispitivanih populacija.

4. Primenom „*hitchhiking*“ mapiranja i korišćenjem četiri različita pristupa, empirijskih kao i pristupa koji se zasnivaju na korišćenju demografskih modela, detektovano je devet mikrosatelitskih lokusa na koje je delovala selekcija tokom oplemenjivanja soje u agroklimatskim uslovima centralne i istočne Evrope. Efekti selekcije su, u zavisnosti od primenjene metode, uočeni na različitom broju SSR lokusa u genomu soje, od 5,9% do 17,6%, pri čemu određeni udeo lokusa predstavljaju lažno pozitivne rezultate. Značajna akumulacija poželjnih alela u elitnoj populaciji u odnosu na predačku je osim uticaja modernog oplemenjivanja, potvrdila pouzdanost „*hitchhiking*“ mapiranja za identifikaciju selektivno značajnih lokusa i alela.
5. E1 gen koji se nalazi u blizini markera Satt557 i ima ključnu ulogu u regulisanju vremena cvetanja i sazrevanja kod soje, ili region u okolini ovog gena, ima značajan uticaj na adaptaciju ispitivanih elitnih genotipova soje na agroklimatske uslove područja centralne i istočne Evrope.
6. Kao rezultat delovanja selekcije i adaptacija soje na agroklimatske uslove centralne i istočne Evrope, u elitnoj populaciji je konstantovano značajno povećanje gametskog disekvilibriruma u odnosu na predačku populaciju, uzrokovano osnivačkim efektom prilikom nastajanja visokoprinosnih linija. Delovanje pozitivne selekcije na identifikovane mikrosatelitske lokuse potvrđeno je značajnim smanjenjem genetičkog diverziteta selektivno značajnih lokusa u poređenju sa neutralnim lokusima u elitnoj populaciji, što nije bio slučaj u predačkoj populaciji. Osim toga, analiza molekularne varijanse i *Fst* vrednost selektivno značajnih lokusa su ukazale na visok stepen diferencijacije između populacija, dok su neutralni lokusi pokazali tek neznatnu populacionu diferencijaciju.
7. Elitna populacija soje nije prošla kroz genetičko usko grlo, te smanjenje genetičkog diverziteta identifikovanih selektivno značajnih lokusa nije nastalo usled nekog od demografskih efekata, nego kao rezultat delovanja selekcije.
8. *In silico* analizom, u selektivno značajnim genomskim regiona je identifikovano ukupno 264 QTL-ova, čije kategorije predstavljaju najbolju potvrdu delovanja selekcije. Najzastupljeniji su bili lokusi koji su determinisali svojstva u vezi sa

reproduktivnim razvojem biljke. Ostali QTL-ovi su uticali na osobine koje su važne prilikom stvaranja uniformnih sorti, što predstavljaju svojstva na osnovu kojih se uobičajeno obavlja selekcija biljaka tokom oplemenjivanja. Značajan broj lokusa je imao direktan uticaj na prinos, komponente prinosa, kao i sadržaj funkcionalnih i rezervnih komponenti semena soje. Ovim se stekao uvid da je tokom nastanka elitne populacije delovanje selekcije najvećim delom bilo usmereno ka stvaranju sorti koje su adaptabilne na agroklimatske uslove gajenja, u centralnoj i istočnoj Evropi sa visokim i stabilim prinosom. Osim toga, utvrđeno je da se u devet selektivno značajnih regiona nalazilo ukupno 111 potencijalnih gena na koje je delovala selekcija, čiji je najveći broj produkata učestvovao u regulaciji transkripcije, vezujući se za specifične DNK sekvence. Jednako brojni su bili i geni koji su učestvovali u procesima transporta, unutar ćelije, kao i između ćelije i spoljašnje sredine.

9. LITERATURA

- Alcivar A, Jacobson J, Rainho J, Meksem K, Lightfoot DA, Kassem M (2007) Genetic analysis of soybean plant height, hypocotyl and internode lengths. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*, 1(1): 1-20
- Allendorf FW, Hohenlohe PA, Luikart G (2010) Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews: Genetics*, 11: 697–709
- Antao T, Lopes A, Lopes RJ, Beja-Pereira A, Luikart G (2008) LOSITAN: a workbench to detect molecular adaptation based on a Fst-outlier method. *BMC Bioinformatics*, 9: 323
- Bachlava E, Dewey R, Burton J, Cardinal A (2009) Mapping and comparison of quantitative trait loci for oleic acid seed content in two segregating soybean populations. *Crop Science*, 49(2): 433-442
- Beaumont MA, Balding DJ (2004) Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Molecular Ecology*, 13: 969–980
- Beaumont MA, Nichols RA (1996) Evaluating loci for use in the genetic analysis of population structure. *Proceedings of the Royal Society of London. B. Biological Sciences*, 263: 1619–1626
- Beissinger TM, Hirsch CN, Vaillancourt B, Deshpande S, Barry K, Buell CR, Kaeppler SM, Gianola D, de Leon N (2013) Genome-wide scan for selection following thirty generations of artificial selection for increased number of ears per plant in the Golden Glow maize population. *Genetics*, 196: 829-840
- Bernard RL, Juvik GA, Hartwig EE, Edwards CJ (1988) Origins and pedigrees of public soybean varieties in the United States and Canada. *USDA Technical Bulletins*, 1796
- Blackman BK, Rasmussen DA, Strasburg JL, Raduski AR, Burke JM, Knapp SJ, Michaels SD, Rieseberg LH (2011) Contributions of flowering time genes to sunflower domestication and improvement. *Genetics*, 187: 271–287
- Bonin A (2008) Population genomics: a new generation of genome scans to bridge the gap with functional genomics. *Molecular Ecology*, 17: 3583–3584
- Bonin A, Taberlet P, Miaud C, Pompanon F (2006) Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular biology and evolution*, 23(4): 773–783
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics*, 32(3): 314-331
- Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES (2007) TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19): 2633-2635
- Brensha W, Kantartzi S, Meksem K, Grier R, Barakat A, Lightfoot D, Kassem M (2012) Genetic analysis of root and shoot traits in the 'Essex' by 'Forrest' recombinant inbred line (RIL) population of soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Journal of Plant Genome Sciences*, 1(1): 1-9
- Breseghele F, Sorrells ME (2006) Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics*, 172: 1165–1177
- Buckler ES, Holland JB, Bradbury PJ, Acharya CB, Brown PJ, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz JC, Goodman MM, Harjes C, Guill K, Kroon DE, Larsson S, Lepak NK, Li H, Mitchell SE, Pressoir G, Peiffer JA, Oropeza Rosas M, Rocheford TR, Cinta Romay M, Romero S, Salvo S, Sanchez Villeda H, Sofia da Silva H, Sun Q, Tian F, Upadyayula N, Ware D, Yates H, Yu J, Zhang Z, Kresovich S, McMullen MD (2009) The genetic architecture of maize flowering time. *Science*, 325(5941): 714–718
- Burke JM, Burger JC, Chapman MA (2007) Crop evolution: from genetics to genomics. *Current opinion in genetics & development*, 17(6): 525–532
- Burke JM, Knapp SJ, Rieseberg LH (2005) Genetic consequences of selection during the evolution of cultivated sunflower. *Genetics*, 171: 1933–1940

- Burke MK (2012) How does adaptation sweep through the genome? Insights from long-term selection experiments. *Proceedings of the Royal Society of London. B. Biological Sciences*, 279(1749): 5029–5038
- Burton JW (1997) Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Field Crops Research*, 53: 171–186
- Carter T, Nelson R, Sneller C, Cui Z (2004) Soybeans: Improvement production and uses. *Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI*, 303–416
- Casa AM, Mitchell SE, Hamblin MT, Sun H, Bowers JE, Paterson AH, Aquadro CF, Kresovich S (2005) Diversity and selection in sorghum: Simultaneous analyses using simple sequence repeats. *Theoretical and Applied Genetics*, 111: 23–30
- Cavalli-Sforza L, Edwards AWF (1967) Phylogenetic analysis: models and estimation procedures. *Evolution*, 32: 550–570
- Cavanagh CR, Chao S, Wang S, Huang BE, Stephen S, Kiani S, Forrest K, Saintenac C, Brown-Guedira GL, Akhunova A, See D, Bai G, Pumphrey M, Tomar L, Wong D, Kong S, Reynolds M, da Silva ML, Bockelman H, Talbert L, Anderson JA, Dreisigacker S, Baenziger S, Carter A, Korzun V, Morrell PL, Dubcovsky J, Morell MK, Sorrells ME, Hayden MJ, Akhunov E (2013) Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 110(20): 8057–8062
- Chapman M, Pashley C, Wenzler J, Hvala J, Tang S, Knapp S, Burke J (2008) A genomic scan for selection reveals candidates for genes involved in the evolution of cultivated sunflower (*Helianthus annuus*). *Plant Cell*, 20(11): 2931–2945
- Chapman MA, Mandel JR, Burke JM (2013) Sequence validation of candidates for selectively important genes in sunflower. *PLoS One/Public Library of Science*, 8(8): e71941
- Charlesworth B, Nordborg M, Charlesworth D (1997) The effects of local selection, balanced polymorphism and background selection on equilibrium patterns of genetic diversity in subdivided populations. *Genetical Research*, 70: 155–174
- Cheng L, Wang Y, Zhang C, Wu C, Xu J, Zhu H, Leng J, Bai Y, Guan R, Hou W, Zhang L, Han T (2011) Genetic analysis and QTL detection of reproductive period and post-flowering photoperiod responses in soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 123: 421–429
- Cheng Z, Gasic K, Wang Z (2013) Population structure, linkage disequilibrium and selective loci in natural populations of *Prunus davidiana*. *Journal of Agricultural Science*, 5(6): 69–85
- Chung WH, Jeong N, Kim J, Lee WK, Lee YG, Lee SH, Yoon W, Kim JH, Choi IY, Choi HK, Moon JK, Kim N, Jeong SC (2014) Population structure and domestication revealed by high-depth resequencing of Korean cultivated and wild soybean genomes. *DNA research*, 21(2):153–167
- CIMMYT (2005) *Laboratory Protocols: CIMMYT Applied molecular genetics Laboratory*. Third Edition, Mexico, D.F.: CIMMYT
- Clapham DE (1995) Calcium signaling. *Cell*, 80: 259–268
- Cober ER, Tanner JW, Voldeng HD (1996) Soybean photoperiod-sensitivity loci respond differentially to light quality. *Crop Science*, 36: 606–610
- Concibido VC, La Vallee B, McLaird P, Pineda N, Meyer J, Hummel L, Yang J (2003) Introgression of a quantitative trait locus for yield from *Glycine soja* into commercial soybean cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 106: 575–582
- Cooper M, Byth DE (1996) Understanding plant adaptation to achieve systematic applied crop improvement—a fundamental challenge. U: Cooper M, Hammer GL (eds) *Plant adaptation and crop improvement*. CABI, Wallingford, pp. 5–23
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144: 2001–2014
- Coyer JA, Hoarau G, Pearson G, Mota C, Jüterbock A, Alpermann T, John U, Olsen JL (2011) Genomic scans detect signatures of selection along a salinity gradient in populations of the intertidal seaweed *Fucus serratus* on a 12 km scale. *Marine genomics*, 4(1): 41–49

- Csanadi G, Vollmann J, Stift G, Lelley T (2001) Seed quality QTLs identified in a molecular map of early maturing soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 912–919
- Cui Z, Wilson RF, Carter TE, James AU, Miyazaki S (2004) Breeding specialty soybeans for traditional and new soyfoods. U: Liu K (ed) *Soybeans as functional foods and ingredients*. AOCS Press, Champaign, IL, pp. 264-322
- Cutter AD, Payseur BA (2013) Genomic signatures of selection at linked sites: unifying the disparity among species. *Nature Reviews: Genetics*, 14: 262-274
- De La Fuente M, Gonzalez AM, De Ron AM, Santalla M (2012) Patterns of genetic diversity in the Andean gene pool of common bean reveal a candidate domestication gene. *Molecular Breeding*, 31(3): 501-516
- Deshmukh R, Sonah H, Patil G, Chen W, Prince S, Mutava R, Vuong T, Valliyodan B, Nguyen HT (2014) Integrating omic approaches for abiotic stress tolerance in soybean. *Frontiers in plant science*, 5(244): 1-12
- Di Rienzo A, Peterson AC, Garza JC, Valdes AM, Slatkin M, Freimer NB (1994) Mutational processes of simple-sequence repeat loci in human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 3166–3170
- Dodd AN, Kudla J, Sanders D (2010) The language of calcium signaling. *Annual Review of Plant Biology*, 61: 593–620
- Doebley JF, Gaut BS, Smith BD (2006) The molecular genetics of crop domestication. *Cell*, 127: 1309-1321
- Dorđević V, Tomičić M, Mikić A (2012) Preliminary results of E2 gene distribution among soybean maturity groups. VI International conference on legume genetics and genomics, Hyderabad, India, 2 - 7 October, P-EAD10
- Dorđević V, Tomičić M, Vidić M, Miladinović J, Mikić A (2013) Learning from past: Implication of neutral variability changes during soybean breeding on further breeding process. First Legume Society Conference, Novi Sad, Serbia, 9-11 May, p. 81
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15
- Du J, Tian Z, Sui Y, Zhao M, Song Q, Cannon SB, Cregan P, Ma J (2012) Pericentromeric effects shape the patterns of divergence, retention, and expression of duplicated genes in the paleopolyploid soybean. *Plant Cell*, 24(1): 21–32
- Earl D, vonHoldt B (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, 4: 359-361
- Egli DB, Fraser J, Leggett JE, Poneleit CG (1981) Control of seed growth in soya beans (*Glycine max* (L.) Merrill). *Annals of Botany*, 48: 171–176
- Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 14: 2611–2620
- Excoffier L, Hofer T, Foll M (2009) Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity*, 103: 285–298
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite version 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564–567
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491
- Faostat, Food And Agriculture Organization Of The United Nations. <http://faostat.fao.org>, poslednja provera 10.01.2015.
- Fasoula VA, Harris DK, Boerma HR (2004) Validation and designation of quantitative trait loci for seed protein, seed oil, and seed weight from two soybean populations. *Crop Science*, 44: 1218-1225

- Fawcett JA, Kado T, Sasaki E, Takuno S, Yoshida K, Sugino RP., Kosugi S, Natsume S, Mitsuoka C, Uemura A, Takagi H, Abe A, Ishii T, Terauchi R, Innan H (2013) QTL map meets population genomics: an application to rice. *PLoS One/Public Library of Science*, 8(12): e83720
- Ferdous SA, Watanabe S, Suzuki C, Tanaka Y, Kamiya M, Yamanaka N, Harada K (2006) QTL analysis of resistance to soybean cyst nematode race 3 in soybean cultivar Toyomusume. *Breeding Science*, 56: 155–163
- Githiri SM, Yang D, Khan NA, Xu D, Komatsuda T, Takahashi R (2007) QTL analysis of low temperature– induced browning in soybean seed coats. *Journal of Heredity*, 98(4): 360–366
- Gizlice Z, Carter TE Jr., Burton JW (1994) Genetic base for North American public soybean cultivars released between 1947-1988. *Crop Science*, 34: 1143-1151
- Goudet J (2001) FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>
- Grainger CM (2012) Artificial selection and the genome: A deep pedigree analysis of an elite soybean cultivar. MSc thesis, University of Guelph, Ontario, Canada
- Grainger CM, Rajcan I (2014) Characterization of the genetic changes in a multi-generational pedigree of an elite Canadian soybean cultivar. *Theoretical and Applied Genetics*, 127(1): 211-229
- Guo J, Wang Y, Song C, Zhou J, Qiu L, Huang H, Wang Y (2010) A single origin and moderate bottleneck during domestication of soybean (*Glycine max*): implications from microsatellites and nucleotide sequences. *Annals of Botany*, 106: 505–514
- Guzman PS, Diers BW, Neece DJ, Martin SKS, Leroy AR, Grau CR, Hughes TJ, Nelson RL (2007) QTL associated with yield in three backcross-derived populations of soybean. *Crop Science*, 47: 111-122
- Hamblin, MT, Casa AM, Sun H, Murray SC, Paterson AH, Aquadro CF, Kresovich S (2006) Challenges of detecting directional selection after a bottleneck: lessons from *Sorghum bicolor*. *Genetics*, 173: 953-964
- Han Y, Li D, Zhu D, Li H, Li X, Teng W, Li W (2012) QTL analysis of soybean seed weight across multi-genetic backgrounds and environments. *Theoretical and Applied Genetics*, 125(4): 671-683
- Harr B, Kauer M, Schlötterer C (2002) Hitchhiking mapping: a population-based fine-mapping strategy for adaptive mutations in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 12949–12954
- Hartl DL, Clark AG (1997) Principles of population genetics. 3 ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, pp. 542
- Haudry A, Cenci A, Ravel C, Bataillon T, Brunel D, Poncet C, Hochu I, Poirier S, Santoni S, Glémin S, David J (2007) Grinding up wheat: A massive loss of nucleotide diversity since domestication. *Molecular Biology and Evolution*, 24(7): 1506–1517
- He Z, Zhai W, Wen H, Tang T, Wang Y, Lu X, Greenberg AJ, Hudson RR, Wu CI, Shi S (2011) Two evolutionary histories in the genome of rice: the roles of domestication genes. *PLoS Genetics/Public Library of Science*, 7(6): e1002100
- Horton MW, Hancock AM, Huang YS, Toomajian C, Atwell S, Auton A, Mulyati NW, Platt A, Sperone FG, Vilhjálmsson BJ, Nordborg M, Borevitz JO, Bergelson J (2012) Genome-wide patterns of genetic variation in worldwide *Arabidopsis thaliana* accessions from the RegMap panel. *Nature Genetics*, 44(2): 212–216
- Hrustić M, Miladinović J (2011) Importance, origin and expansion of soybean. U: Miladinović J, Hrustić M, Vidić M (eds) Soybean. Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad – Sojaprotein, Bečej, Serbia, pp. 11-44
- Hu Z, Zhang D, Zhang G, Kan G, Hong D, Yu D (2014) Association mapping of yield-related traits and SSR markers in wild soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.). *Breeding Science*, 63(5): 441–449
- Hufford KM, Canaran P, Ware DH, McMullen MD, Gaut BS (2007) Patterns of selection and tissue-specific expression among maize domestication and crop improvement loci. *Plant Physiology*, 144: 1642–1653

- Hufford MB, Xu X, van Heerwaarden J, Pyhäjärvi T, Chia JM, Cartwright RA, Elshire RJ, Glaubitz JC, Guill KE, Kaeppler SM, Lai J, Morrell PL, Shannon LM, Song C, Springer NM, Swanson-Wagner RA, Tiffin P, Wang J, Zhang G, Doebley J, McMullen MD, Ware D, Buckler ES, Yang S, Ross-Ibarra J (2012) Comparative population genomics of maize domestication and improvement. *Nature Genetics*, 44(7): 808–811
- Hymowitz T (2004) Speciation and cytogenetics. In: Boerma HR, Specht JE (Eds.), *Soybeans: Improvement, production, and uses*, Third Edition. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA, pp. 97–136
- Hyten DL, Choi IY, Song Q, Shoemaker RC, Nelson RL, Costa JM, Specht JE, Cregan PB (2007) Highly variable patterns of linkage disequilibrium in multiple soybean populations. *Genetics*, 175: 1937–1944
- Hyten DL, Song Q, Zhu Y, Choi IY, Nelson RL, Costa JM, Specht JE, Shoemaker RC, Cregan PB (2006) Impacts of genetic bottlenecks on soybean genome diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(45): 16666–16671
- Innan H, Kim Y (2004) Pattern of polymorphism after strong artificial selection in a domestication event. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 10667–10672
- Jannink JL, Bink MC, Jansen RC (2001) Using complex plant pedigrees to map valuable genes. *Trends in Plant Science*, 6: 337–342
- Jiang B, Nan H, Gao Y, Tang L, Yue Y, Lu S, Ma L, Cao D, Sun S, Wang J, Wu C, Yuan X, Hou W, Kong F, Han T, Liu B (2014) Allelic combinations of soybean maturity loci E1, E2, E3 and E4 result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes. *PLoS One/Public Library of Science*, 9(8): e106042
- Jiao Y, Zhao H, Ren L, Song W, Zeng B, Guo J, Wang B, Liu Z, Chen J, Li W, Zhang M, Xie S, Lai J (2012) Genome-wide genetic changes during modern breeding of maize. *Nature Genetics*, 44(7): 812–815
- Joshi T, Fitzpatrick MR, Chen S, Liu Y, Zhang H, Endacott RZ, Gaudiello EC, Stacey G, Nguyen HT, Xu D (2014) Soybean knowledge base (SoyKB): a web resource for integration of soybean translational genomics and molecular breeding. *Nucleic Acids Research* 42 (D1): D1245–D1252
- Joshi T, Valliyodan B, Wu JH, Lee SH, Xu D, Nguyen HT (2013) Genomic differences between cultivated soybean, *G. max* and its wild relative *G. soja*. *BMC Genomics*, 14(Suppl 1): S5
- Jun TH, Van K, Kim MY, Kwak M, Lee SH (2011) Uncovering signatures of selection in the soybean genome using SSR diversity near QTLs of agronomic importance. *Genes and Genomics*, 33: 391–397
- Kane NC, Rieseberg LH (2007) Selective sweeps reveal candidate genes for adaptation to drought and salt tolerance in common sunflower, *Helianthus annuus*. *Genetics*, 175(4): 1823–34
- Kauer MO, Dieringer D, Schlötterer C (2003) A microsatellite variability screen for positive selection associated with the “out of Africa” habitat expansion of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 165: 1137–1148
- Kim MY, Lee S, Van K, Kim TH, Jeong SC, Cho IY, Kim DS, Lee YS, Park D, Ma J, Kim WY, Kim BC, Park S, Lee KA, Kim DH, Kim KH, Shin JH, Jang YE, Kim KD, Liu WX, Chaisan T, Kang YJ, Lee YH, Kim KH, Moon JK, Schmutz J, Jackson SA, Bhak J, Lee SH (2010) Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(51): 22032–22037
- Kim MY, Van K, Kang YJ, Kim KH, Lee SH (2012) Tracing soybean domestication history: From nucleotide to genome. *Breeding Science*, 61: 445–452
- Komatsu K, Hwang T, Takahashi M, Sayama T, Funatsuki H, Oki N, Ishimoto M (2012) Identification of QTL controlling post-flowering period in soybean. *Breeding Science*, 61(5): 646–652

- Komatsu K, Okuda S, Takahashi M, Matsunaga R, Nakazawa Y (2005) QTL mapping of antibiosis resistance to common cutworm (*Spodoptera litura Fabricius*) in soybean. *Crop Science*, 45(5): 2044-2048
- Korir P, Qi B, Wang Y, Zhao T, Yu D, Chen S, Gai J (2011) A study on relative importance of additive, epistasis and unmapped QTL for Aluminum tolerance at seedling stage in soybean. *Plant Breeding*, 130(5): 551-562
- Lam HM, Xu X, Liu X, Chen W, Yang G, Wong FL, Li MW, He W, Qin N, Wang B, Li J, Jian M, Wang J, Shao G, Wang J, Sun S, Zhang G (2010) Resequencing of 31 wild and cultivated soybean genomes identifies patterns of genetic diversity and selection. *Nature Genetics*, 42: 1053-1059
- Li CB, Zhou AL, Sang T (2006) Genetic analysis of rice domestication syndrome with the wild annual species, *Oryza nivara*. *New Phytologist*, 170(1): 185-194
- Li H, Zhao T, Wang Y, Yu D, Chen S, Zhou R, Gai J (2011) Genetic structure composed of additive QTL, epistatic QTL pairs and collective unmapped minor QTL conferring oil content and fatty acid components of soybeans. *Euphytica*, 182(1): 117-132
- Li J, Thomson M, McCouch SR (2004) Fine mapping of a grain-weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome 3. *Genetics*, 168: 2187-2195
- Li Y, Guan R, Liu Z, Ma Y, Wang L, Li L, Lin F, Luan W, Chen P, Yan Z, Guan Y, Zhu L, Ning X, Smulders MJM, Li W, Piao R, Cui Y, Yu Z, Guan M, Chang R, Hou A, Shi A, Zhang B, Zhu S, Qiu L (2008) Genetic structure and diversity of cultivated soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) landraces in China. *Theoretical and Applied Genetics*, 117: 857-871
- Li YH, Li W, Zhang C, Yang L, Chang RZ, Gaut BS, Qiu LJ (2010) Genetic diversity in domesticated soybean (*Glycine max*) and its wild progenitor (*Glycine soja*) for simple sequence repeat and single-nucleotide polymorphism loci. *New Phytologist*, 188: 242-253
- Li YH, Liu YL, Reif JC, Liu ZX, Liu B, Mette MF, Chang RZ, Qiu LJ (2014a) Bi-parental re-sequencing coupled with SNP genotyping of a segregating population offers insights into the landscape of recombination and fixed genomic regions in elite soybean. *G3 (Bethesda)*, 4(4): 553-560
- Li YH, Reif JC, Jackson SA, Ma YS, Chang RZ, Qiu LJ (2014b) Detecting SNPs underlying domestication-related traits in soybean. *BMC Plant Biology*, 14: 251-258
- Li YH, Zhao SC, Ma JX, Li D, Yan L, Li J, Qi XT, Guo XS, Zhang L, He WM, Chang RZ, Liang QS, Guo Y, Ye C, Wang XB, Tao Y, Guan RX, Wang JY, Liu YL, Jin LG, Zhang XQ, Liu ZX, Zhang LJ, Chen J, Wang KJ, Nielsen R, Li RQ, Chen PY, Li WB, Reif JC, Purugganan M, Wang J, Zhang MC, Wang J, Qiu LJ (2013) Molecular footprints of domestication and improvement in soybean revealed by whole genome re-sequencing. *BMC Genomics*, 14: 579-591
- Liang Q, Cheng X, Mei M, Yan XL, Liao H (2010) QTL analysis of root traits as related to phosphorus efficiency in soybean. *Annals of Botany*, 106: 223-234
- Liu A, Burke JM (2006) Patterns of nucleotide diversity in wild and cultivated sunflowers. *Genetics*, 173: 321-330
- Liu B, Abe J (2009) QTL mapping for photoperiod insensitivity of a Japanese soybean landrace Sakamotowase. *Journal of Heredity*, 101(2): 251-256
- Liu W, Kim MY, Van K, Lee YH, Li H, Liu X, Lee SH (2011) QTL identification of yield-related traits and their association with flowering and maturity in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 14: 65-70
- Luikart G, England PR, Tallmon D, Jordan S, Taberlet P (2003) The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nature Reviews: Genetics*, 4: 981-994
- Lynch M, Walsh B (1998) *Genetics and analysis of quantitative traits*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Mace ES, Tai S, Gilding EK, Li Y, Prentis PJ, Bian L, Campbell BC, Hu W, Innes DJ, Han X, Cruickshank A, Dai C, Frère C, Zhang H, Hunt CH, Wang X, Shatte T, Wang M, Su Z, Li J, Lin X, Godwin ID, Jordan DR, Wang J (2013) Whole-genome sequencing reveals untapped genetic potential in Africa's indigenous cereal crop sorghum. *Nature Communications*, 4: 2320

- Mäkinen HS, Shikano T, Cano JM, Merilä J (2008) Hitchhiking mapping reveals a candidate genomic region for natural selection in threespined stickleback chromosome VIII. *Genetics*, 178: 453–465
- Maynard Smith J, Haigh J (1974) The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genetical Research*, 23: 23–35
- Miladinović J, Đorđević V, Vidić M, Balešević-Tubić S, Đukić V (2013) Soybean breeding at the Institute of Field and Vegetable Crops. *Legume Perspectives*, 1: 28-30
- Miladinović J, Hrustić M, Vidić M (2008) Soja. Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad i Sojaprotein, Bečej, AMB Grafika, Novi Sad
- Miladinovic J, Kurosaki H, Burton JW, Hrustic M, Miladinovic D (2006) The adaptability of shortseason soybean genotypes to varying longitudinal regions. *European Journal of Agronomy*, 25: 243-249
- Moe KT, Zhao W, Song HS, Kim YH, Chung JW, Cho YI, Park PH, Park HS, Chae SC, Park YJ (2010) Development of SSR markers to study diversity in the genus *Cymbidium*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4): 585-594
- Moose SP, Mumm RH (2008) Molecular plant breeding as the foundation for 21st century crop improvement. *Plant Physiology*, 147: 969-977
- Morales AMAP, O'Rourke JA, van de Mortel M, Scheider KT, Bancroft TJ, Borém A, Nelson RT, Nettleton D, Baum TJ, Shoemaker RC, Frederick RD, Abdelnoor RV, Pedley KF, Whitham SA, Graham MA (2013) Transcriptome analyses and virus induced gene silencing identify genes in the *Rpp4*-mediated Asian soybean rust resistance pathway. *Functional Plant Biology*, 40(10): 1029-1047
- Morrell PL, Buckler ES, Ross-Ibarra J (2011) Crop genomics: Advances and applications. *Nature Review: Genetics*, 13(2): 85–96
- Morris GP, Ramu P, Deshpande SP, Hash CT, Shah T, Upadhyaya HD, Riera-Lizarazu O, Brown PJ; Acharya CB, Mitchell SE, Harriman J, Glaubitz JC, Buckler ES, Kresovich S (2013) Population genomic and genome-wide association studies of agroclimatic traits in sorghum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 110(2): 453–458
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 70: 3321–3323
- Nielsen R (2005) Molecular signatures of natural selection. *Annual Review of Genetics*, 39: 197–218
- Olsen KM, Caicedo AL, Polato N, McClung A, McCouch S, Purugganan MD (2006) Selection under domestication: Evidence for a sweep in the rice Waxy genomic region. *Genetics*, 173: 975–983
- Orf JH, Chase K, Jarvik T, Mansur LM, Cregan PB, Adler FR, Lark KG (1999) Genetics of soybean agronomic traits: I. Comparison of three related recombinant inbred populations. *Crop Science*, 39(6): 1642-1651
- Ott A, Trauttschold B, Sandhu D (2011) Using microsatellites to understand the physical distribution of recombination on soybean chromosomes. *PLoS One/Public Library of Science*, 6(7): e22306
- Palaisa K, Morgante M, Tingey S, Rafalski A (2004) Long-range patterns of diversity and linkage disequilibrium surrounding the maize Y1 gene are indicative of an asymmetric selective sweep. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 101: 9885–9890
- Panthee DR, Pantalone VR, Saxton AM, West DR, Sams CE (2006) Genomic regions associated with amino acids composition in soybean seeds. *Molecular Breeding*, 17(1): 79-89
- Park SDE (2001) Trypanotolerance in West African cattle and the population genetic effects of selection. Ph. D. Dissertation, University of Dublin, Ireland
- Paterson AH, Lander ES, Hewitt JD, Peterson S, Lincoln SE, Tanksley SD (1988) Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. *Nature*, 335: 721–726
- Pathan MS, Slep DA (2008) Advances in soybean breeding. U: Stacey G (ed) *Genetics and genomics of soybean*. Springer, New York, pp. 113-133
- Pavlidis P (2010) Detecting selective sweeps in natural populations of *Drosophila melanogaster*. Ph. D. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität, Germany

- Peakall R, Smouse PE (2012) GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28(19): 2537-2539
- Pennings PS, Hermisson J (2006) Soft Sweeps II—Molecular population genetics of adaptation from recurrent mutation or migration. *Molecular Biology and Evolution*, 23(5): 1076–1084
- Piry S, Luikart G, Cornuet JM (1999) BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*, 90: 502–503
- Poovaiah BW, Du L, Wang H, Yang T (2013) Recent advances in calcium/calmodulin-mediated signaling with an emphasis on plant-microbe interactions. *Plant Physiology*, 163: 531–542
- Priolli RHG, Wymierski PT, da Cunha CP, Pinheiro JB, Vello NA (2013) Genetic structure and a selected core set of Brazilian soybean cultivars. *Genetics and Molecular Biology*, 36(3): 382-390
- Pritchard JK, Przeworski M (2001) Linkage disequilibrium in humans: models and data. *American Journal of Human Genetics*, 69: 1–14
- Pritchard JK, Stephens M, Rosenberg NA, Donnelly P (2000) Association mapping in structured populations. *American Journal of Human Genetics*, 67: 170–181
- Przeworski M, Coop G, Wall JD (2005) The signature of positive selection on standing genetic variation. *Evolution*, 59: 2312–2323
- Qin C, Yu C, Shen Y, Fang X, Chen L, Min J, Cheng J, Zhao S, Xu M, Luo Y, Yang Y, Wu Z, Mao L, Wu H, Ling-Hu C, Zhou H, Lin H, González-Morales S, Trejo-Saavedra DL, Tian H, Tang X, Zhao M, Huang Z, Zhou A, Yao X, Cui J, Li W, Chen Z, Feng Y, Niu Y, Bi S, Yang X, Li W, Cai H, Luo X, Montes-Hernández S, Leyva-González MA; Xiong Z, He X, Bai L, Tan S, Tang X, Liu D, Liu J, Zhang S, Chen M, Zhang L, Zhang L, Zhang Y, Liao W, Zhang Y, Wang M, Lv X, Wen B, Liu H, Luan H, Zhang Y, Yang S, Wang X, Xu J, Li X, Li S, Wang J, Palloix A, Bosland PW, Li Y, Krogh A, Rivera-Bustamante RF, Herrera-Estrella L, Yin Y, Yu J, Hu K, Zhang Z (2014) Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into Capsicum domestication and specialization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 111(14): 5135–5140
- Qiu LJ, Chen PY, Liu ZX, Li YH, Guan RX, Wang, LH, Chang RZ (2011) The worldwide utilization of the Chinese soybean germplasm collection. *Plant Genetical Research*, 9: 109- 122
- Ren J, Sun D, Chen L, You FM, Wang J, Peng Y, Nevo E, Sun D, Luo MC, Peng J (2013) Genetic diversity revealed by single nucleotide polymorphism markers in a worldwide germplasm collection of durum wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 7061-7088
- Reyna N, Sneller CH (2001) Evaluation of marker-assisted introgression of yield QTL alleles into adapted soybean. *Crop Science*, 41: 1317–1321
- Rhode C (2013) Signatures of selection in natural and cultured abalone (*Haliotis midae*): A population genomics study. Ph. D. Dissertation, Faculty of Science, Stellenbosch University, South Africa
- Rhoné B, Brandenburg JT, Austerlitz F (2011) Impact of selection on genes involved in regulatory network: a modelling study. *Journal of Evolutionary Biology*, 24: 2087–2098
- Ristova D, Šarčević H, Šimon S, Mihajlov Lj, Pejić I (2010) Genetic diversity in southeast European soybean germplasm revealed by SSR markers. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 75(1): 21-26
- Rošić S, Köhler F, Erhardt S (2014) Repetitive centromeric satellite RNA is essential for kinetochore formation and cell division. *Journal of Cell Biology*, 207: 335-349
- Rossi ME, Orf JH, Liu LJ, Dong Z, Rajcan I (2013) Genetic basis of soybean adaptation to North American vs. Asian mega-environments in two independent populations from Canadian 3 Chinese crosses. *Theoretical and Applied Genetics*, 126: 1809–1823
- Ross-Ibarra J (2005) Quantitative trait loci and the study of plant domestication. *Genetics of Adaptation*, 123: 197–204
- Ross-Ibarra J, Morrell PL, Gaut BS (2007) Plant domestication, a unique opportunity to identify the genetic basis of adaptation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(Suppl): 8641–8648

- Salas P, Oyarzo-Llaipen JC, Wang D, Chase K, Mansur L (2006) Genetic mapping of seed shape in three populations of recombinant inbred lines of soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Theoretical and Applied Genetics*, 113: 1459–1466
- Schlötterer C (2002) A microsatellite-based multilocus screen for the identification of local selective sweeps. *Genetics*, 160: 753–763
- Schlötterer C (2003) Hitchhiking mapping-functional genomics from the population genetics perspective. *Trends in genetics*, 19(1): 32–38
- Schlötterer C, Dieringer D (2005) A novel test statistic for the identification of local selective sweeps based on microsatellite gene diversity. U: Nurminsky DS (ed) *Selective sweep*. Kluwer Academic, Boston, Massachusetts, USA, pp. 55-64
- Schmutz J, Cannon SB, Schlueter J, Ma JX, Mitros T, Nelson W, Hyten DL, Song QJ, Thelen JJ, Cheng JL, Xu D, Hellsten U, May GD, Yu Y, Sakurai T, Umezawa T, Bhattacharyya MK, Sandhu D, Valliyodan B, Lindquist E, Peto M, Grant D, Shu SQ, Goodstein D, Barry K, Futrell-Griggs M, Abernathy B, Du JC, Tian ZX, Zhu LC, Gill N, Joshi T, Libault M, Sethuraman A, Zhang XC, Shinozaki K, Nguyen HT, Wing RA, Cregan P, Specht J, Grimwood J, Rokhsar D, Stacey G, Shoemaker RC, Jackson SA (2010) Genome sequence of the palaeopolyploid soybean. *Nature*, 463: 178-183
- Schroeder JI, Delhaize E, Frommer WB, Guerinot ML, Harrison MJ, Herrera-Estrella L, Horie T, Kochian LV, Munns R, Nishizawa NK, Tsay YF, Sanders D (2013) Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. *Nature*, 497: 60–66
- Sebastian SA, Streit LG, Stephens PA, Thompson JA, Hedges BR, Fabrizio MA, Soper JF, Schmidt DH, Kallem RL, Hinds MA, Feng L, Hoeck JA (2010) Context-specific marker-assisted selection for improved grain yield in elite soybean populations. *Crop Science*, 50: 1196–1206
- Severin AJ, Woody JL, Bolon YT, Joseph B, Diers BW, Farmer AD, Muehlbauer GJ, Nelson RT, Grant D, Specht JE, Graham MA, Cannon SB, May Gd, Vance CP, Shoemaker RC (2010) RNA-Seq Atlas of *Glycine max*: A guide to the soybean transcriptome. *BMC Plant Biology*, 10: 160
- Shoemaker RC, Gufty RD, Lorenzen LL, Specht JE (1992) Molecular genetic mapping of soybean: Map utilization. *Crop Science*, 32: 1091–1098
- Sim SC, Robbins MD, Van Deynze A, Michel AP, Francis DM (2011) Population structure and genetic differentiation associated with breeding history and selection in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Heredity*, 106: 927–935
- Song Q, Hyten DL, Jia G, Quigley CV, Fickus EW, Nelson RL, Cregan PB (2013) Development and evaluation of SoySNP50K, a high-density genotyping array for soybean. *PLoS One/Public Library of Science*, 8(1): e54985
- Song QJ, Marek LF, Shoemaker RR, Lark KG, Concibido VC, Delannay X, Specht JE, Cregan PB (2004) A new integrated genetic linkage map of the soybean. *Theoretical and Applied Genetics*, 109: 122–128
- Soto-Cerda BJ, Cloutier S (2013) Outlier loci and selection signatures of simple sequence repeats (SSRs) in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Plant Molecular Biology Reporter*, 31: 978-990
- SoyBase, the USDA-ARS Genetics and Genomics Database (2015) Grant D, Nelson RT, Cannon SC, <http://soybase.org>
- Specht JE, Chase K, Macrander M, Graef GL, Chung J, Markwell JP, Germann M, Orf JH, Lark KG (2001) Soybean response to water: A QTL analysis of drought tolerance. *Crop Science*, 41: 493-509
- Stefaniak TR, Hyten DL, Pantalone VR, Klarer A, Pfeiffer TW (2006) Soybean cultivars resulted from more recombination events than unselected lines in the same population. *Crop Science*, 46: 43-51
- Storz JF (2005) Using genome scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology*, 14: 671–688

- Strasburg JL, Sherman NA, Wright KM, Moyle LC, Willis JH, Rieseberg LH (2012) What can patterns of differentiation across plant genomes tell us about adaptation and speciation? *Philosophical Transactions of the Royal Society. B: Biological Sciences*, 367(1587): 364-373
- Strobeck C (1987) Average number of nucleotide differences in a sample from a single subpopulation: a test for population subdivision. *Genetics*, 117(1): 149-153
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123: 585-595
- Tang K, Thornton KR, Stoneking M (2007) A new approach for using genome scans to detect recent positive selection in the human genome. *PLoS Biology/Public Library of Science*, 5: e171
- Tassel: Trait Analysis by aSSociation, Evolution and Linkage. <http://www.maizegenetics.net/#!/tassel/c17q9>, poslednja provera oktobar 2014.
- Tavaud-Pirra M, Sartre P, Nelson R, Santoni S, Texier N, Roumet P (2009) Genetic diversity in a soybean collection. *Crop Science*, 49: 895-902
- Terry LL, Chase K, Jarvik T, Orf J, Mansur L, Lark KG (2000) Soybean quantitative trait loci for resistance to insects. *Crop Science*, 40(2): 375-382
- Teschke M, Mukabayire O, Wiehe T, Tautz D (2008) Identification of selective sweeps in closely related populations of the house mouse based on microsatellite scans. *Genetics*, 180: 1537-1545
- Teshima KM, Coop G, Przeworski M (2006) How reliable are empirical genomic scans for selective sweeps? *Genome Research*, 16: 702-712
- Tian Z, Wang X, Lee R, Li Y, Specht JE, Nelson RL, McClean PE, Qiu L, Ma J (2010) Artificial selection for determinate growth habit in soybean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 107(19): 8563-8568
- Tischner T, Allphin L, Chase K, Orf JH, Lark KG (2003) Genetics of seed abortion and reproductive traits in soybean. *Crop Science*, 43: 464-473
- Tomicic M, Djordjevic V, Obreht D, Miladinovic J, Brbaklic Lj, Mikic A, Mikic S (2014) Tracking footprints of selection associated with soybean adaptation to Central-East Europe environments. *Euphytica*, DOI: 10.1007/s10681-014-1313-z
- Tomičić M, Đorđević V, Miladinović J, Đukić V, Mikić A (2013) Diversity of E genes among soybean maturity groups. *First Legume Society Conference*, Novi Sad, Serbia, 9-11 May, p. 108
- van Heerwaarden J, Hufford MB, Ross-Ibarra J (2012) Historical genomics of North American maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 109(31): 12420-12425
- Varshney RK, Song C, Saxena RK, Azam S, Yu S, Sharpe AG, Cannon S, Baek J, Rosen BD, Tar'an B, Millan T, Zhang X, Ramsay LD, Iwata A, Wang Y, Nelson W, Farmer AD, Gaur PM, Soderlund C, Penmetsa RV, Xu C, Bharti AK, He W, Winter P, Zhao S, Hane JK, Carrasquilla-Garcia N, Condie JA, Upadhyaya HD, Luo MC, Thudi M, Gowda CLL, Singh NP, Lichtenzweig J, Gali KK, Rubio J, Nadarajan N, Dolezel J, Bansal KC, Xu X, Edwards D, Zhang G, Kahl G, Gil J, Singh KB, Datta SK, Jackson SA, Wang J, Cook DR (2013) Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement. *Nature Biotechnology*, 31(3): 240-246
- Varshney RK, Terauchi R, McCouch SR (2014) Harvesting the promising fruits of genomics: Applying genome sequencing technologies to crop breeding. *PLoS Biology/Public Library of Science*, 12(6): e1001883
- Vigouroux Y, McMullen M, Hittinger CT, Houchins K, Schulz L, Kresovich S, Matsuoka Y, Doebley J (2002) Identifying genes of agronomic importance in maize by screening microsatellites for evidence of selection during domestication. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 99: 9650-9655
- Walsh B (2008) Using molecular markers for detecting domestication, improvement, and adaptation genes. *Euphytica*, 161(1-2): 1-17
- Wang D, Graef G, Procopiuk A, Diers B (2004) Identification of putative QTL that underlie yield in interspecific soybean backcross populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 108:458-467

- Wang L, Ge H, Hao C, Dong Y, Zhang X (2012) Identifying loci influencing 1,000-kernel weight in wheat by microsatellite screening for evidence of selection during breeding. *PLoS One/Public Library of Science*, 7(2): e29432
- Wang R, Yu Y, Zhao J, Shi Y, Song Y, Wang T, Li Y (2008) Population structure and linkage disequilibrium of a mini set of maize inbred lines in China. *Theoretical and Applied Genetics*, 117: 1141–1153
- Weiss KM, Clark AG (2002) Linkage disequilibrium and the mapping of complex human traits. *Trends in Genetics*, 18: 19–24
- Wen Z, Tan R, Yuan J, Bales C, Du W, Zhang S, Chilvers MI, Schmidt C, Song Q, Cregan PB, Wang D (2014) Genome-wide association mapping of quantitative resistance to sudden death syndrome in soybean. *BMC Genomics*, 15: 809
- Wiehe T, Nolte V, Zivkovic D, Schlötterer C (2007) Identification of selective sweeps using a dynamically adjusted number of linked microsatellites. *Genetics*, 175: 207–218
- Wilcox JR, Guodong Z (1997) Relationships between seed yield and seed protein in determinate and indeterminate soybean populations. *Crop Science*, 37: 361–364
- Wilson RF (2008) Soybean: Market driven research needs. U: Stacey G (ed) *Genetics and genomics of soybean*. Springer, New York, pp. 3–15
- Wright S (1978) *Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations*. The University of Chicago Press, Chicago
- Wright SI, Vroh Bi I, Schroeder SG, Yamasaki M, Doebley JF, McMullen MD, Gaut BS (2005) The effects of artificial selection on the maize genome. *Science*, 308: 1310–1314
- Wu X, Zhou B, Zhao J, Guo N, Zhang B, Yang F, Chen S, Gai J, Xing H (2011) Identification of quantitative trait loci for partial resistance to *Phytophthora sojae* in soybean. *Plant Breeding*, 130: 144–149
- Xia Z, Watanabe S, Yamada T, Tsubokura Y, Nakashima H, Zhai H, Anai T, Sato S, Yamazaki T, Lu S, Wu H, Tabata S, Harada K (2012) Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 109(32): E2155–E2164
- Xu X, Liu X, Ge S, Jensen JD, Hu F, Li X, Dong Y, Gutenkunst RN, Fang L, Huang L, Li J, He W, Zhang G, Zheng X, Zhang F, Li Y, Yu C, Kristiansen K, Zhang X, Wang J, Wright M, McCouch S, Nielsen R, Wang J, Wang W (2011) Resequencing 50 accessions of cultivated and wild rice yields markers for identifying agronomically important genes. *Nature Biotechnology*, 30(1): 105–111
- Yamasaki M, Tenaillon MI, Bi IV, Schoeder SG, Sanchez-Villeda H, Doebley J, Gaut BS, McMullen MD (2005) A large-scale screen for artificial selection in maize identifies candidate agronomic loci for domestication and crop improvement. *The Plant Cell*, 17: 2859–2872
- Yamasaki M, Wright SI, McMullen MD (2007) Genomic screening for artificial selection during domestication and improvement in maize. *Annals of Botany*, 100: 967–973
- Yeh FC, Yang R, Boyle T (1999) POPGENE. Version 1.31. Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. University of Alberta, Edmonton, AB, Canada
- Yu J, Buckler ES (2006) Genetic association mapping and genome organization of maize. *Current Opinions in Biotechnology*, 17: 155–160
- Yue P, Arelli PR, Sleper DA (2001) Molecular characterization of resistance to *Heterodera glycines* in soybean ‘PI 438489B’. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 921–928
- Zhang D, Cheng H, Wang H, Zhang H, Liu C, Yu D (2010) Identification of genomic regions determining flower and pod numbers development in soybean (*Glycine max* L). *Journal of Genetics and Genomics*, 37(8): 545–556
- Zhang G, Gu C, Wang D (2009) Molecular mapping of soybean aphid resistance gene in PI 567541B. *Theoretical and Applied Genetics*, 118(3): 473–482

- Zhang W, Wang Y, Luo G, Zhang J, He C, Wu X, Gai J, Chen S (2004) QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine max* L. Merr) genetic map and their association with EST markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 108: 1131-1139
- Zhao Q, Thuillet AC, Uhlmann NK, Weber A, Rafalski JA, Allen SM, Tingey S, Doebley J (2008) The role of regulatory genes during maize domestication: Evidence from nucleotide polymorphism and gene expression. *Genetics*, 178: 2133–2143
- Zhu Q, Zheng X, Luo J, Gaut B, Ge S (2007) Multilocus analysis of nucleotide variation of *Oryza sativa* and its wild relatives: Severe bottleneck during domestication of rice. *Molecular Biology and Evolution*, 24: 875–888
- Zivkovic D, Wiehe T (2008) Second order moments of segregating sites under variable population size. *Genetics*, 180: 341–357

10. PRILOG

Tabela 1. Udeo pojedinih genotipova predlačke populacije u pedigreu elitnih sorti soje

	A.K. (Harrow)	Capital	192	614/83	Kabott	Manchu	Mandarin	Mukden	Strain No18	Richland	Roanoke	Ogden	Ostatak*
Gracia	1,563	0	0	0	0	1,563	9,375	3,125	0	6,25	0	0	14,064
NS Kaća	1,562	6,25	2,344	2,344	4,688	0,585	5,272	2,344	1,563	2,734	4,688	0	46,876
Krajina	3,125	12,5	6,25	6,25	12,5	0	9,375	6,25	0	6,25	12,5	0	25
Jelica	12,5	31,25	0	0	0	0	37,5	9,375	0	9,375	0	0	0
Fortuna	1,563	6,25	3,125	3,125	6,25	0	4,688	3,125	0	3,125	6,25	0	62,5
Meli	1,56	6,25	3,125	3,125	6,25	0	4,685	3,125	0	3,125	6,25	0	12,5
Julija	4,688	15,625	3,125	3,125	6,25	11,718	11,718	4,688	12,5	7,813	6,25	0	0
Merkur	5,075	9,37	1,56	1,56	3,125	5,44	20,365	5,445	3,125	8,975	3,125	1,56	30,85
Tajfun	3,125	6,249	0	0	0	5,421	15,189	3,028	1,563	6,152	0	2,248	57,03
NS Virtus	1,56	6,25	3,125	3,125	6,25	7,005	11,69	3,125	6,25	8,199	7,03	0,38	35,929
Afrodita	3,125	12,5	6,25	6,25	12,5	4,685	14,06	6,25	12,5	9,375	12,5	0	0
Belka	6,25	12,5	0	0	0	0	18,75	31,25	0	31,25	0	0	0
Nađa	1,56	6,25	0	0	0	2,34	7,025	0	6,25	1,56	0	0	0
Proteinka	1,56	6,25	0	0	0	2,34	7,025	0	6,25	1,56	0	0	0
Valjevka	4,69	12,5	3,125	3,125	6,25	2,34	16,41	6,25	6,25	7,81	6,25	0	25
Bečejka	2,34	7,8	4,68	4,68	9,375	2,34	9,36	5,46	6,25	7,02	9,375	0	6,25
Alisa	4,687	12,5	3,125	3,125	6,25	2,344	16,403	18,75	6,25	20,312	6,25	0	0
Galina	3,125	9,374	6,25	6,25	12,5	2,342	11,717	7,812	6,25	9,375	12,5	0	12,5
NS Maximus	4,297	12,499	4,687	4,687	9,375	6,25	19,14	6,249	10,938	9,764	9,375	2,344	0,391
NS Zenit	5,469	12,499	1,563	1,563	3,125	6,593	23,39	12,403	4,688	16,308	3,125	2,248	7,03
NS Princeza	2,93	7,031	3,125	3,125	6,25	3,71	12,499	5,469	4,688	7,813	7,031	1,172	10,157
NS - 9	6,25	25	0	0	0	9,375	28,125	0	25	6,25	0	0	0
NS - 105	6,25	25	0	0	0	0	18,75	0	0	0	0	0	50
Balkan	3,125	6,25	6,25	6,25	12,5	0	9,375	9,375	0	9,375	12,5	0	25
Ravnica	3,125	12,5	6,25	6,25	12,5	4,685	14,06	6,25	12,5	9,375	12,5	0	0
Vera	6,25	25	3,125	3,125	6,25	4,687	23,437	3,125	12,5	6,25	6,25	0	0

Tabela 1 (nastavak)

	A.K. (Harrow)	Capital	192	614/83	Kabott	Manchu	Mandarin	Mukden	Strain No18	Richland	Roanoke	Ogden	Ostatak*
Novosađanka	3,906	6,25	3,125	3,125	6,25	10,936	28,905	6,25	6,25	7,813	6,25	4,688	0
Venera	6,245	18,75	0	0	0	10,925	29,46	3,125	12,5	9,37	0	3,12	6,25
Ana	1,562	6,25	3,125	3,125	6,25	2,342	7,03	3,125	6,25	4,687	6,25	0	0
Drina	3,125	9,374	6,25	6,25	12,5	2,342	11,717	7,812	6,25	9,375	12,5	0	12,5
Glorija	2,344	6,25	1,563	1,563	3,125	1,171	8,203	9,375	3,125	10,156	3,125	0	50
Sava	2,34	7,8	4,68	4,68	9,375	2,34	9,36	5,46	6,25	7,02	9,375	0	6,25
Šapčanka	5,857	10,15	2,34	2,34	4,687	4,685	22,255	7,417	6,25	8,978	4,687	4,686	3,125
Zvezda	3,125	9,374	6,25	6,25	12,5	2,342	11,717	7,812	6,25	9,375	12,5	0	12,5
Diva	6,25	12,5	3,125	3,125	6,25	5,859	24,609	7,813	9,375	10,156	6,25	4,688	0
Victoria	3,125	9,374	6,25	6,25	12,5	2,342	11,717	7,812	6,25	9,375	12,5	0	12,5
Aleksandra	3,906	10,938	3,125	3,125	6,25	3,515	15,234	5,469	9,375	7,813	6,25	0	0
Zlata	5,47	12,499	1,563	1,563	3,125	6,591	23,394	6,153	4,688	10,057	3,125	2,248	19,53
NS Optimus	3,125	12,5	6,25	6,25	12,5	4,687	14,062	6,25	12,5	9,375	12,5	0	0
NS Apolo	3,711	9,375	2,344	2,344	4,688	7,593	18,726	4,688	3,125	8,765	4,688	3,93	7,225
Indijana	6,25	18,75	3,125	3,125	6,25	4,685	23,435	6,25	12,5	9,375	6,25	0	0
NS - 21	12,5	25	0	0	0	3,125	40,625	6,25	0	6,25	0	6,25	0
NS - 202	3,125	12,5	0	0	0	4,687	14,062	0	12,5	3,125	0	0	0
Mačvanka	7,813	6,25	0	0	0	5,469	28,906	6,25	6,25	7,813	0	6,25	25
Vojvođanka	3,125	12,5	6,25	6,25	12,5	4,685	14,06	6,25	12,5	9,375	12,5	0	0
Avala	5,468	12,5	0	0	0	13,28	29,684	3,124	12,5	6,249	0	4,686	0
Mima	5,468	6,25	0	0	0	8,983	25,388	3,125	0	9,666	2,929	1,464	30,464
Idila	1,562	6,25	3,125	3,125	6,25	2,342	7,03	3,125	6,25	4,687	6,25	0	50
Rubin	4,688	12,499	3,125	3,125	6,25	7,764	22,219	6,153	7,813	10,84	6,25	2,248	7,03
NS Sirius	3,123	9,375	0	0	0	5,463	14,73	1,563	6,25	4,685	0	1,56	3,125
NS Fantast	2,93	7,031	3,125	3,125	6,25	3,71	12,499	5,469	4,688	7,813	7,031	1,172	10,157
NS Zita	1,953	3,125	1,563	1,563	3,125	5,468	14,453	3,125	3,125	3,906	3,125	2,344	0

Tabela 1 (nastavak)

A.K. (Harrow)	Capital	192	614/83	Kabott	Manchu	Mandarin	Mukden	Strain No18	Richland	Roanoke	Ogden	Ostatak*
Morava	0	0	0	0	6,64	6,64	0	0	4,979	2,929	1,464	27,34
Senka	3,905	0	0	0	10,65	22,366	3,126	0	5,688	0	13,61	8,594
Pros. vrednost	4,025	2,618	2,618	5,237	4,451	16,516	5,641	6,076	8,003	5,389	1,377	27,329

*udeo svih ostalih predačkih genotipova

Tabela 2. Prajmeri korišćeni za amplifikaciju mikrosatelitskih lokusa (SoyBase, 2015)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Fluorofora	Sekvenca „forward“ prajmera (5'-3')	Sekvenca „reverse“ prajmera (5'-3')
1	50,16	Satt321	6-FAM	CACCGTCGTAAAAA ACTGTGTCGT	GCGTGTCAAAGAGTTTTAGACATC
	55,22	Satt295	VIC	ACACTAAACTAATCCGATGAAAAACA	GTACGTACCAATGGACAACTCTG
	56,57	Satt383	VIC	CGATCTAACACCGCATATTCCTCTG	CTTCCCTAATATTGGCAACCTCTATG
	64,51	Satt507	PET	GCGCTCAGCCTTGTTAAATCACTT	GCGCTACTCTCGTCTCGTTAGTTA
	108,88	Satt147	NED	CCATCCCTTCCTCCAAATAGAT	CTTCCACACCCCTAGTTTAGTGACAA
2	43,91	Satt558	6-FAM	CTCACACCCCTTTCATTATCTA	AAATCGCGCATCTAAATTAC
	79,41	Satt644	VIC	TATGCTCAAAACCACAAA	CAGGCCACCAATTTTCTT
3	36,86	Sat_084	PET	AAAAAAGTATCCATGAAACAA	TTGGGACCTTAGAAGCTA
	65,45	Satt521	VIC	GCGCTTCACTCTGTGTAGTGTAG	GCGTTAGATAACGACACATTATTA
	84,59	Satt234	NED	TGAGAGCAGGACATTTT	TCTGCGAGTGTITCTG
4	10,34	SOYGPATR	VIC	GGAAGAAAGTATTGGTCTGT	AGGAGAGAGTGGAGAGATTA
	73,32	Satt190	NED	GGGAGTGTGAACCTACATTGTCT	GGGCCTTGAATTTTGTGCTAT
	123,79	Satt338	NED	GCGCCCAAGTATTATGAGATAATTGAT	GCGATAATTTTAAAACTGGACCA
	32,68	Satt155	VIC	AGATCCAACACCTGGCCTAAT	GCTGCACAAATTCATTCATT
5	64,73	Satt385	NED	AATCGAGGATTCACITGAT	CATTGGCCACACAACAAC
	88,58	Satt174	PET	TTTCATTTCTTTGCCCTTCT	TTCGTAGTCCGTCTTTTCAT
	94,19	Satt511	PET	GCGACTTTACTGAAAACCTGGAAA	GCTTCAAACCAACAACAACCTTA
	95,95	Satt211	PET	GAAAAGGCCACATCCAA	CATGGGCATGCAGTAACA
	26,65	Satt227	NED	GCTCTGCCAAATAGTGT	CACCTGGCACATAGA
6	44,66	Satt422	PET	ATTAGGGGAGGGGAGGTAAAAAGT	TGAAGGCCCGATATCCAAATAAA
	112,19	Satt557	6-FAM	GCGGATCCACCAATGTAATATGTG	GCGCACTAACCCCTTTATTGAA
	113,42	Satt319	6-FAM	CAACTCAGTAGGGGTCAATAACAA	TGAAATAGGGAAAATAAGGGAACA
	117,76	Satt460	VIC	GCGCGATGGGCTGTGGTTTTTAT	GCGCATACGATTTGGCATTTTCTATTG
	128,22	Satt433	VIC	ATCAGCTGCATAAGTAAAGATACA	ACATGCTTGCAGAGGTGAATA
	151,91	Satt357	NED	CCTGAGCAATTCATACTCC	TAACCGATCCGATCCTTGACA

Tabela 2 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Fluorofora	Sekvenca „forward“ prajmera (5'-3')	Sekvenca „reverse“ prajmera (5'-3')
7	18,58	Satt150	VIC	AAGCTTGAGGTTATTTCGAAAATGAC	TGCCATCAGGTTGTGTAAGTGT
	33,47	Satt567	6-FAM	GGCTAACCCGCTCTATGT	GGCCATGCACCTGCTACT
	38,93	Satt435	NED	GCGGTGAAACGGCTCTCTTTGATAGTGA	GCGTTGGATTAATTAATTAATAATTAATTT
	66,98	Satt175	VIC	GACCTCGCTCTCTGTTCTCAT	GGTGACCAACCCCTATTCCTTAT
	112,79	Satt346	NED	GGAGGGAGGAAAGTGTGTGG	GCGCATGCTTTTCATAAGTTT
	133,83	Satt336	PET	AATTGGAGTGGGTCACAC	TTCCCGGAAAGAAAGAAA
8	162,03	Satt429	6-FAM	GCGACCATCATCTAATCACAATCTACTA	TCCCCATCATTTATCGAAAATAATAATT
	14,35	Satt242	6-FAM	GCGTTGATCAGGTCGATTTTATTGT	GCGAGTGCCAACTAACTACTTTTATGA
9	43,34	Satt544	NED	GCTATGGGAAAAGGATGTGTG	GAGCTACCCGAGATGATACTC
	52,88	Satt240	PET	GCGCCCTTGGATTTTATTGC	TTTACACCTTCCCCTCTTTTGA
10	9,53	Satt487	NED	ATCACGGACCAGTTCATTGA	TGAACCGGTAATCTTTTAAATCT
	39,82	Satt259	PET	TGGGCCATTTGGGCAGCTCGACT	ATTCACACGCATCTGGAATAATA
	55,81	Satt576	VIC	GCGGACACACACAACAACCTACA	GCGGGTTTGGCTTCTTATAATTATC
	93,37	Satt331	NED	GCAGAGTCCCCCTAAATATAG	CGGGAACAACCACTCTCCATT
	100,37	Satt592	NED	GCGAAGATTGGTCTTTTATGTCAAATG	GCGGAGGAATACAAGTCTCTATTCAA
	119,5	Satt243	6-FAM	GCGCATTGCACATTAGGTTTCTGTT	GCGGTAAGATCACGCCATTATTAAAGA
11	46,38	Satt197	PET	CACTGCTTTTCCCCTCTCT	AAGATACCCCAACATTATTGTAA
	84,19	Satt583	PET	CCGAGCTAACAAAAGCGCACCAAAT	GGGGCACAAAGCCACACTT
12	91,12	Satt181	PET	TGGCTAGCAGATTGACA	GGAGCATAGCTGTTAGGA
	3,04	Satt343	NED	CATGGCGGAAAGCGAAAACA	TCCCAATTCACTCTTCA
13	78,05	Satt334	VIC	GCGTTAAGAAATGCATTTATGTTTAGTC	GCGAGTTTTTGGTTGGATTGAGTTG
	102,08	Satt144	PET	CGTCGCCATCACTATGAGAA	CCATCTTGAGCAGAGTTTGAAGTT
14	73,2	Satt556	VIC	GCGATAAAACCCGATAAAATAA	GCGTTGTGCACCTTGTTTTCT
	87,58	Satt534	NED	CTCCTCCTGCGCAACAACAATA	GGGGATCTAGGCCATGAC

Tabela 2 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Fluorofora	Sekvenca „forward“ prajmera (5'-3')	Sekvenca „reverse“ prajmera (5'-3')
15	12,92	Satt411	6-FAM	TGGCCATGTCAAACCATAACAACA	GCGTTGAAGCCGCCCTACAAATAATAAT
	19,29	Satt384	6-FAM	TGGGGGTCAATTTTAAATTTGTGC	ATTTCCCTTTTCAACCCACCCTCTGTTT
	32,09	Satt651	NED	GCGTGTCTCTTTATACGAAGTACACTA	GCGTGGCAATAAATAATTTCTCACTGAA
	45,4	Satt263	NED	CACCCAAATCATGATAGCATTTTAT	CTCATGGAAATTGTCTTTTCAGTTTC
16	39,63	Satt596	6-FAM	TCCCTTCGTCCACCAAAT	CCGTCGATTCCGTACAA
	53,84	Satt582	6-FAM	CCGGTGATACTCCATACCAATAAC	CAACGCCGATTTTCTATTTTGTCTCG
17	79,23	Satt389	VIC	GCGGCTGTGTATGTTGAAATCA	GCGCCAAAACCAAAGTTATATC
	89,75	Satt464	PET	GGGTGGGAGAAATTAGGTT	TTTTGCATTAAGGCTAATATGAA
18	12,54	Satt688	6-FAM	ATGCCCTCCAAAGAGAAAT	CTGCCCATTTGACCCCATCT
	12,74	Satt570	PET	CTCATGTGTCTCTACCCAGACTCA	CGCTATCCCCTTTTGTATTTTCTTTTGC
	43,77	Satt115	NED	GGTTCGTTTTTTTATTGATG	ACGACGAAATTTGATGATAA
	56,52	Satt533	VIC	GAACAGGTAGCAGTAAGTAATG	TCGTTTTGCCTTTGTAGAAACA
	62,16	Satt199	PET	GCGGTAATGTGAAAATCATTTATGGTT	GCGTTTTTCATACGGTGTTTTGGCCTAT
	69,87	Satt517	6-FAM	CTTGTTCCTTTAACACACTTCAT	TCAACTGAAAAGGAAACTAGAAATAATG
	30,58	Satt398	VIC	GTAAGGGCGGGTATCAACAGTGCT	GGTAACCGCGGACTCAGTTAAAC
19	106,37	Satt513	6-FAM	GCGCATCACAAAGTTTTATAGATGCTGA	GAGGTCTAGTGTCTTTTGGTAAAGGTT
	107,23	Satt373	PET	TCCCGGAGATAAATTCGTAAAAT	GGCCAGATACCCCAAGTTGTACTTGT
20	36,94	Satt239	VIC	GCGCCAAAATAATGAAATCACAAAT	GCGAAACAAATCAACATCCTTGAAC
	112,7	Satt440	PET	TGAGAACGTTTGAAAAGAGAT	GAAGAGATTAAGCATAAAGAAACTTT

Tabela 3. Frekvencije alela analiziranih mikrosatelitskih lokusa u predačkoj (P) i elitnoj (E) populaciji soje

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt234	213	0,214	0,565	Satt227	143	0,786	0,907
	216	0,786	0,435		146	0,214	0,093
Satt331	234	0,179	0,037	Satt644	201	0,714	0,917
	247	0,821	0,963		204	0,286	0,083
Satt144	206	0,786	0,935	Satt319	169	0,732	0,694
	224	0,179	0,065		171	0,179	0,037
	227	0,036	0		174	0,089	0,269
Satt384	117	0,179	0,037	Satt411	89	0,196	0,132
	145	0,821	0,907		92	0,696	0,745
	148	0	0,056		132	0,107	0,123
Satt533	246	0,714	0,509	Satt582	89	0,036	0,176
	249	0,143	0,481		104	0,857	0,741
	252	0,143	0,009		107	0,107	0,083
Satt592	239	0,071	0,046	Satt688	152	0,019	0
	242	0,518	0,611		161	0,346	0,213
	251	0,411	0,343		170	0,635	0,787
SOYGPATR	99	0	0,019	Satt115	130	0,107	0,157
	108	0,643	0,620		148	0,821	0,769
	111	0,107	0		151	0,036	0,074
	114	0,250	0,361		154	0,036	0
Satt174	153	0,036	0,037	Satt199	157	0,648	0,787
	159	0,161	0,287		161	0,037	0
	177	0,732	0,583		164	0,037	0
	180	0,071	0,093		198	0,278	0,213
Satt240	239	0,196	0,176	Satt383	212	0,071	0,157
	242	0,214	0,037		218	0,250	0,593
	245	0,464	0,676		221	0,250	0,102
	248	0,125	0,111		224	0,429	0,148
Satt460	107	0,179	0	Satt464	188	0,161	0,861
	137	0,250	0,157		206	0,036	0,019
	154	0,536	0,843		212	0,107	0
	157	0,036	0		218	0,696	0,120
Satt557	186	0,143	0	Satt558	214	0,036	0,148
	195	0,286	0,037		224	0,107	0
	198	0	0,019		231	0,464	0,269
	205	0,571	0,944		234	0,393	0,583

Tabela 3 (nastavak)

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt567	88	0	0,019	Satt651	160	0,268	0,713
	104	0,321	0,741		166	0,411	0,056
	107	0,536	0,194		198	0,286	0,213
	110	0,143	0,046		201	0,036	0,019
Satt150	180	0	0,019	Satt155	138	0,036	0
	186	0,036	0		144	0,571	0,537
	189	0,125	0,019		153	0,250	0,213
	198	0,839	0,944		156	0,143	0,231
	221	0	0,019		160	0	0,019
Satt211	102	0,036	0	Satt243	199	0,446	0,259
	105	0,696	0,352		208	0,321	0,417
	108	0	0,019		214	0,107	0,065
	114	0,268	0,611		231	0,089	0,259
	117	0	0,019		234	0,036	0
Satt259	183	0,054	0,019	Satt321	215	0,036	0
	189	0,250	0		227	0,268	0,389
	201	0,036	0		230	0,321	0,093
	204	0,232	0,398		233	0,339	0,519
	207	0,429	0,583		239	0,036	0
Satt336	173	0,036	0	Satt346	188	0,179	0,037
	179	0,429	0,815		191	0,089	0,019
	182	0,107	0		206	0,107	0,157
	188	0,393	0,185		209	0,589	0,787
	190	0,036	0		212	0,036	0
Satt433	212	0,160	0,306	Satt507	209	0,071	0,019
	221	0,320	0,565		212	0	0,019
	224	0,040	0		215	0,018	0,241
	227	0,040	0		218	0,607	0,315
	230	0,440	0,130		221	0,304	0,407
Satt511	245	0,036	0,009	Satt513	103	0	0,009
	248	0,304	0,130		109	0,304	0,148
	254	0,179	0,370		130	0,071	0
	257	0,268	0,231		133	0,571	0,778
	260	0,214	0,259		173	0,054	0,065

Tabela 3 (nastavak)

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt147	169	0,393	0,241	Satt175	153	0,071	0,019
	172	0,071	0,019		156	0,357	0,481
	187	0,321	0,657		159	0,036	0,065
	190	0	0,046		162	0,214	0,019
	199	0,107	0,037		171	0,214	0,139
	206	0,107	0		186	0,107	0,278
Satt181	177	0,321	0,241	Satt197	133	0,036	0
	198	0,071	0		173	0,214	0,185
	205	0	0,009		179	0,036	0
	208	0,429	0,565		182	0,071	0,046
	211	0,036	0,019		185	0,214	0,019
	217	0,143	0,167		188	0,429	0,75
Satt239	173	0,232	0,167	Satt295	206	0,036	0
	179	0,036	0,009		209	0,804	0,407
	182	0,036	0,019		212	0,071	0,083
	185	0,125	0		218	0,054	0,481
	188	0,321	0,435		241	0,036	0
	191	0,250	0,370		244	0	0,028
Satt334	195	0,036	0	Satt338	224	0,375	0,046
	201	0,268	0,139		238	0,018	0
	204	0,411	0,806		250	0,161	0,287
	207	0,071	0		261	0	0,380
	210	0,214	0,037		270	0,214	0,231
	213	0	0,019		273	0,232	0,056
Satt389	201	0,089	0,019	Satt398	169	0,107	0
	209	0,339	0,583		172	0,375	0,639
	221	0	0,009		175	0,339	0,194
	230	0,214	0,037		181	0,036	0
	233	0,143	0,028		184	0,143	0,111
	237	0,214	0,324		190	0	0,056
Satt440	160	0,268	0,037	Satt487	180	0	0,019
	180	0,107	0,565		189	0,143	0,046
	192	0,375	0,343		195	0,214	0,315
	195	0,143	0,056		198	0,196	0,278
	207	0,071	0		201	0,196	0,278
	213	0,036	0		204	0,250	0,065

Tabela 3 (nastavak)

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt556	146	0,036	0	Satt570	102	0	0,009
	159	0,429	0,398		105	0,732	0,556
	162	0,250	0		114	0,018	0
	168	0,036	0		120	0,107	0,435
	194	0,036	0,148		123	0,107	0
	206	0,214	0,454		126	0,036	0
Sat_084	136	0,036	0	Satt385	265	0,286	0,398
	144	0,036	0		300	0	0,019
	146	0,429	0,500		303	0,232	0,213
	148	0,179	0,481		306	0,036	0,028
	152	0,214	0,019		309	0,071	0
	155	0,036	0		312	0,286	0,343
	158	0,071	0		318	0,089	0
Satt429	241	0,143	0,065	Satt544	110	0,339	0,269
	244	0,071	0,019		140	0,179	0,009
	256	0	0,167		147	0,125	0,380
	259	0,036	0		150	0	0,019
	262	0,196	0		157	0,071	0,306
	265	0,446	0,639		160	0,107	0,019
	268	0,107	0,111		163	0,179	0
Satt190	174	0,036	0,019	Satt242	160	0,036	0
	177	0,036	0		175	0,036	0
	180	0,375	0,269		181	0,018	0
	186	0,375	0,194		190	0,107	0
	189	0,018	0		193	0,214	0,602
	201	0	0,009		196	0,446	0,148
	214	0	0,009		199	0,018	0
	220	0,161	0,500		202	0,125	0,25
Satt343	107	0,143	0	Satt373	217	0,054	0,120
	113	0,036	0		223	0,071	0
	125	0,304	0,620		226	0,143	0
	128	0	0,019		242	0,107	0,037

Tabela 3 (nastavak)

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt343	134	0,143	0,046	Satt373	251	0,375	0,731
	137	0,179	0,278		254	0,143	0,037
	140	0,071	0		279	0,036	0,037
	147	0,089	0,037		282	0,036	0
	153	0,036	0		285	0,036	0,037
Satt422	233	0,107	0	Satt517	238	0,036	0
	236	0,071	0		254	0,036	0
	240	0,036	0,019		262	0,071	0,094
	243	0	0,019		265	0,375	0,481
	249	0	0,019		268	0,232	0,368
	252	0,518	0,574		272	0	0,019
	255	0,268	0,315		275	0,107	0,038
	258	0	0,037		278	0,071	0
	261	0	0,019		281	0,071	0
Satt435	231	0,038	0	Satt576	231	0,411	0,509
	250	0	0,019		240	0,018	0
	256	0,115	0		256	0,018	0
	260	0,038	0		259	0,018	0,019
	262	0,038	0		282	0,036	0
	268	0	0,038		290	0,107	0,241
	270	0,038	0		294	0,143	0,037
	274	0,077	0,019		300	0,036	0
	283	0,288	0,115		303	0,125	0,194
	285	0,365	0,808		306	0,089	0
Satt263	199	0,071	0,019	Satt357	209	0	0,019
	202	0,071	0		212	0,482	0,954
	205	0,143	0,167		223	0,054	0
	208	0	0,019		240	0,036	0
	214	0,071	0,019		305	0,036	0
	219	0	0,019		311	0,036	0,009
	222	0,143	0,333		314	0,089	0
	229	0,107	0,056		317	0,268	0,019

Tabela 3 (nastavak)

Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela		Lokus	Veličina alela (bp)	Frekvencija alela	
		P	E			P	E
Satt263	232	0,321	0,306	Satt521	190	0	0,066
	235	0,018	0,028		199	0	0,009
	244	0,036	0		204	0,036	0
	247	0,018	0,019		214	0,089	0,019
	256	0	0,019		226	0,036	0
Satt534	138	0	0,056		229	0,125	0,019
	152	0,036	0		231	0,250	0,245
	158	0,071	0,037		234	0,054	0,094
	161	0	0,019		237	0,071	0
	164	0,036	0		240	0	0,009
	167	0,036	0,046		245	0,036	0
	176	0,071	0,093		248	0,018	0
	179	0,214	0		257	0	0,019
	182	0,393	0,574		260	0,286	0,519
	185	0,143	0,167		Satt583	117	0,339
188	0	0,009	126	0,054		0	
242	0,107	0	135	0,089		0	
245	0,054	0,204	138	0,089		0	
251	0,214	0,204	141	0,179		0,102	
254	0,107	0	144	0,107		0,083	
257	0,214	0,167	147	0,036		0	
260	0,214	0,407	163	0,071		0	
286	0,089	0,019	192	0,036	0		
Satt596							

Tabela 4. Eigen vrednosti PCoA analize, za različite ose i uzorke predačke i elitne populacije

Osa	1	2	3	4	5	6
Eigen vrednost	168888,87	89863,88	77532,87	71394,11	60092,84	54229,17
Predačka populacija						
Fiskeby 840-7-3	-85,43	-37,25	-52,60	36,35	66,52	13,61
Manitoba Brown	-99,72	21,07	-43,93	32,94	55,19	12,61
Flambeau	-50,16	-59,29	-0,58	-1842	-22,08	21,55
Fiskeby III	-85,60	-11,84	-28,78	50,16	61,94	14,65
Capital	0,11	-15,57	43,91	56,41	-18,02	-15,19
Strain No18	-12,50	-61,01	19,70	-68,44	6,68	4,23
Mandarin (Ottawa)	3,06	-86,02	27,22	-0,46	9,66	-46,01
Richland	-15,98	-39,41	7,89	-15,84	-54,92	-18,69
Mukden	-30,92	-7,60	-13,24	10,46	-31,01	69,41
Korean	-46,57	-29,83	11,18	0,11	-53,30	-32,18
A.K. (Harrow)	-27,03	29,00	35,55	65,02	-40,73	54,55
Illini	-27,03	29,00	35,55	65,02	-40,73	54,55
Dunfield	-32,85	9,93	20,26	-71,74	-22,75	64,04
Perry	-29,11	3,61	30,91	19,16	-51,11	-20,60
S-100	-19,84	0,79	26,55	38,47	-40,20	47,86
Ogden	-64,48	41,28	-70,29	-81,74	-25,64	-13,10
CNS	-112,34	61,30	-10,38	-1,29	50,11	-38,34
Pando	-28,66	-32,95	31,91	-65,37	-19,77	-6,53
Four	-15,58	-10,35	31,78	14,89	11,05	-9,47
Elgin	-4,72	46,68	9,83	-41,56	1,61	-14,95
Colfax	-12,70	82,17	33,35	26,48	-16,97	-12,11
Harper	18,70	16,09	9,08	6,72	2,85	2,46
Apache	15,45	-51,01	20,77	8,23	23,07	8,64
Manchu	-54,53	-4,53	9,63	-4,28	-9,07	0,04
Kabott	-12,66	-23,58	30,44	5,67	1,15	-25,94
Roanoke	-74,60	49,30	-63,95	-59,95	0,15	15,92
192	-68,53	-43,13	-16,52	15,99	15,30	-3,56
614/83	-50,96	-12,80	14,06	-34,88	-73,94	38,97
Elitna populacija						
Gracia	-83,00	-44,01	17,37	16,19	24,40	27,63
Jelica	16,79	-40,98	-8,09	38,52	-30,15	-29,03
Krajina	0,80	-31,31	-31,27	-6,82	-43,21	-30,26
Fortuna	-12,38	-65,66	-17,72	7,47	-2,72	-23,99
Meli	27,56	-12,56	5,49	-10,18	-1,12	-43,26
Merkur	0,32	61,86	20,93	18,13	2,45	-4,74
NS Virtus	10,23	70,15	15,01	-12,55	-11,11	-12,20
Galina	60,05	2,70	5,06	6,30	10,17	26,93
Alisa	40,38	-3,47	-1,45	-7,27	-5,36	-10,92
Belka	19,19	-21,70	-31,82	34,98	-22,04	-32,06
Afrodita	49,44	14,96	-47,61	-0,54	-10,03	-20,67
Vera	61,58	-12,69	20,47	-18,67	31,42	14,79
Nada	21,87	-20,17	-39,74	21,75	-0,24	-9,81

Tabela 4 (nastavak)

Osa	1	2	3	4	5	6
Proteinka	18,85	-8,98	-41,79	15,67	-7,73	-13,10
Valjevka	66,28	-7,61	-22,31	-5,89	18,15	16,66
Bečejka	57,75	8,36	1,79	4,40	35,09	22,16
NS Maximus	17,93	26,44	50,75	12,14	18,52	6,39
Victoria	66,51	-1,74	-8,91	9,67	15,10	16,76
Diva	74,91	5,92	-45,71	-0,85	-4,30	16,15
NS-105	49,33	-30,91	45,14	-29,36	-5,23	17,07
Balkan	33,83	-11,26	55,77	2,09	24,17	21,74
Ravnica	65,58	-6,31	-37,92	-11,11	-8,81	16,13
Novosađanka	55,86	8,60	-46,57	20,57	-25,86	-1,02
Venera	50,59	-1,29	31,36	-7,49	24,83	-0,86
Ana	58,08	1,22	-22,95	12,41	-5,90	14,37
Drina	28,04	-6,67	20,87	-6,29	-13,00	-3,79
Šapčanka	51,27	-5,77	12,02	15,22	4,13	7,36
Sava	57,60	2,70	-31,81	23,75	-33,62	5,00
Zvezda	63,08	16,11	0,86	-3,01	22,14	28,00
Indijana	57,90	-24,21	15,65	2,99	12,23	-2,94
Idila	25,49	52,44	-48,74	-18,42	-15,78	1,85
Rubin	30,95	-15,16	-25,51	7,35	8,28	-26,86
NS-9	61,80	-14,91	26,39	-19,89	31,17	13,92
NS-21	-12,05	11,47	16,61	-21,76	19,05	32,46
NS-202	39,43	-27,13	39,33	-36,07	-1,75	17,61
Vojvođanka	74,53	0,43	-40,94	-2,57	-5,46	17,3
Avala	16,83	5,23	31,74	-87,89	47,51	-27,09
Mima	18,18	48,97	14,72	20,90	32,42	-13,61
Senka	-24,31	42,15	1,58	-24,91	0,47	-19,8
Morava	13,77	55,70	17,78	18,65	27,47	-13,18
NS Optimus	36,67	30,11	0,64	5,35	-8,43	6,40
NS Sirius	7,43	11,33	36,31	19,98	-13,08	-46,84
Aleksandra	72,56	-0,38	-47,09	-1,14	-7,25	15,77
Glorija	21,84	9,58	39,62	-16,13	14,46	-46,06
Julija	53,34	-27,74	-15,19	6,19	30,80	23,01
Mačvanka	46,25	8,04	-72,70	0,54	-24,31	-12,07
NS Apolo	27,78	46,87	18,71	16,42	-23,44	-10,55
Fantast	14,17	20,51	27,92	22,72	-12,11	-47,90
Kaća	-13,77	-44,75	-8,18	34,27	19,58	-9,18
NS Princeza	27,33	22,75	-2,48	4,14	16,94	21,21
Zenit	14,42	-33,6	-38,11	30,71	-11,02	-33,58
NS Zita	16,72	57,13	26,95	3,57	-5,94	-46,30
Tajfun	-0,24	6,37	8,30	24,45	14,18	-8,35
Zlata	36,47	-12,91	5,00	-8,35	41,84	12,88

Tabela 5. Procenat varijacija za prve tri koordinatne ose u PCoA analizi

Osa	Eigen vrednost	% varijacija	kumulativni % varijacija
1	168888,87	32,35	32,35
2	89863,88	17,22	49,57
3	77532,87	14,85	64,42

Tabela 6. Rezultati dobijeni primenom različitih demografskih modela migracija u programu Arlequin

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Ostrvski model			Hijerahijski-ostrvski model		
			<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>	<i>p</i> -vrednost	<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>	<i>p</i> -vrednost
1	50,16	Satt321	0,668	0,063	0,392	0,671	0,083	0,363
	55,22	Satt295	0,679	0,242	0,087	0,684	0,274	0,082
	56,57	Satt383	0,736	0,141	0,264	0,741	0,181	0,239
	64,51	Satt507	0,701	0,094	0,422	0,702	0,101	0,440
	108,88	Satt147	0,655	0,108	0,332	0,660	0,121	0,418
2	43,91	Satt558	0,632	0,065	0,417	0,633	0,078	0,349
	79,41	Satt644	0,281	0,134	0,202	0,288	0,274	0,100
3	36,86	Sat_084	0,662	0,097	0,378	0,664	0,111	0,467
	65,45	Satt521	0,755	0,044	0,227	0,759	0,073	0,232
	84,59	Satt234	0,561	0,208	0,138	0,561	0,222	0,179
4	10,34	SOYGPATR	0,506	0,011	0,101	0,509	0,058	0,303
	73,32	Satt190	0,737	0,097	0,429	0,740	0,119	0,479
	123,79	Satt338	0,870	0,161	0,174	0,875	0,197	0,181
	32,68	Satt155	0,610	-0,004	0,065	0,610	0,001	0,002*
5	64,73	Satt385	0,723	0,007	0,028*	0,726	0,030	0,052
	88,58	Satt174	0,539	0,022	0,162	0,538	0,027	0,097
	94,19	Satt511	0,771	0,033	0,150	0,775	0,076	0,240
	95,95	Satt211	0,560	0,188	0,184	0,603	0,231	0,173
	26,65	Satt227	0,240	0,049	0,356	0,243	0,056	0,293
6	44,66	Satt422	0,605	0,007	0,044*	0,609	0,030	0,097
	112,19	Satt557	0,377	0,285	0,035*	0,400	0,530	0,006*
	113,42	Satt319	0,463	0,045	0,338	0,471	0,117	0,316
	117,76	Satt460	0,454	0,138	0,179	0,461	0,210	0,124
	128,22	Satt433	0,696	0,117	0,324	0,702	0,148	0,335
	151,91	Satt357	0,442	0,330	0,025*	0,459	0,432	0,014*

Tabela 6 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Ostrvski model			Hijerahijski-ostrvski model		
			<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>	<i>p</i> -vrednost	<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>	<i>p</i> -vrednost
7	18,58	Satt150	0,178	0,056	0,369	0,182	0,107	0,351
	33,47	Satt567	0,623	0,232	0,115	0,638	0,341	0,054
	38,93	Satt435	0,604	0,197	0,169	0,627	0,383	0,039*
	66,98	Satt175	0,745	0,049	0,262	0,750	0,076	0,256
	112,79	Satt346	0,472	0,059	0,372	0,472	0,081	0,443
	133,83	Satt336	0,523	0,186	0,113	0,534	0,267	0,087
8	162,03	Satt429	0,664	0,073	0,445	0,666	0,086	0,383
	14,35	Satt242	0,746	0,169	0,192	0,751	0,198	0,196
9	43,34	Satt544	0,819	0,106	0,391	0,822	0,125	0,474
	52,88	Satt240	0,600	0,051	0,337	0,607	0,141	0,365
10	9,53	Satt487	0,791	0,029	0,118	0,792	0,035	0,045*
	39,82	Satt259	0,625	0,081	0,429	0,626	0,090	0,409
	55,81	Satt576	0,714	0,025	0,128	0,720	0,062	0,200
	93,37	Satt331	0,167	0,108	0,193	0,171	0,129	0,299
	100,37	Satt592	0,531	-0,001	0,128	0,534	0,016	0,053
	119,5	Satt243	0,721	0,040	0,215	0,726	0,083	0,317
11	46,38	Satt197	0,581	0,113	0,337	0,595	0,223	0,186
	84,19	Satt583	0,618	0,199	0,155	0,632	0,294	0,088
12	91,12	Satt181	0,641	0,011	0,068	0,641	0,023	0,064
	3,04	Satt343	0,707	0,094	0,424	0,717	0,176	0,248
13	78,05	Satt334	0,564	0,176	0,197	0,576	0,254	0,145
	102,08	Satt144	0,218	0,072	0,348	0,221	0,086	0,435
14	73,2	Satt556	0,712	0,083	0,474	0,719	0,151	0,336
	87,58	Satt534	0,717	0,048	0,266	0,716	0,049	0,134

Tabela 6 (nastavak)

Hiromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	Ostrvski model		Hijerahijski-ostrvski model	
			<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>	<i>H_o</i>	<i>F_{st}</i>
15	12,92	Satt411	0,433	-0,006	0,434	0,031
	19,29	Satt384	0,229	0,054	0,228	0,062
	32,09	Satt651	0,687	0,230	0,696	0,288
	45,4	Satt263	0,810	0,019	0,813	0,041
16	39,63	Satt596	0,803	0,043	0,808	0,076
	53,84	Satt582	0,374	0,032	0,373	0,030
17	79,23	Satt389	0,685	0,076	0,688	0,089
	89,75	Satt464	0,741	0,558	0,752	0,575
18	12,54	Satt688	0,404	0,038	0,408	0,082
	12,74	Satt570	0,556	0,125	0,555	0,115
	43,77	Satt115	0,359	-0,002	0,359	-0,009
	56,52	Satt533	0,575	0,140	0,575	0,147
	62,16	Satt199	0,404	0,019	0,405	0,008
19	69,87	Satt517	0,698	0,021	0,700	0,044
	30,58	Satt398	0,651	0,070	0,656	0,101
	106,37	Satt513	0,474	0,063	0,479	0,097
20	107,23	Satt373	0,652	0,122	0,653	0,128
	36,94	Satt239	0,709	0,021	0,711	0,040
	112,7	Satt440	0,763	0,171	0,771	0,230

H_o-uočena heterozigotnost; *F_{st}*-indeks fiksacije;

**p*<0,05

Tabela 7. Analiza genetičkog uskog grla primenom TPM modela mutacija za skup neutralnih lokusa

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	predačka populacija			elitna populacija				
			He	Heq	SD	p	He	Heq	SD	p
1	50,16	Satt321	0,720	0,664	0,093	0,312	0,577	0,426	0,156	0,158
	56,57	Satt383	0,699	0,578	0,119	0,122	0,597	0,551	0,128	0,433
	64,51	Satt507	0,544	0,577	0,118	0,308	0,683	0,638	0,101	0,397
	108,88	Satt147	0,727	0,662	0,093	0,260	0,511	0,635	0,103	0,120
2	43,91	Satt558	0,629	0,581	0,118	0,418	0,571	0,426	0,154	0,164
	79,41	Satt644	0,416	0,248	0,166	0,250	0,154	0,219	0,168	0,463
3	36,86	Sat_084	0,743	0,763	0,061	0,289	0,523	0,425	0,153	0,300
	65,45	Satt521	0,835	0,844	0,037	0,321	0,662	0,802	0,049	0,018*
4	10,34	SOYGPATR	0,522	0,459	0,144	0,420	0,489	0,428	0,155	0,443
	73,32	Satt190	0,703	0,722	0,074	0,315	0,646	0,696	0,082	0,223
	123,79	Satt338	0,747	0,664	0,091	0,163	0,721	0,637	0,099	0,186
5	32,68	Satt155	0,600	0,580	0,119	0,482	0,618	0,554	0,127	0,373
	64,73	Satt385	0,782	0,721	0,075	0,198	0,684	0,637	0,102	0,388
	88,58	Satt174	0,440	0,581	0,116	0,119	0,573	0,552	0,127	0,490
	94,19	Satt511	0,771	0,661	0,094	0,060	0,732	0,635	0,102	0,145
	95,95	Satt211	0,450	0,453	0,147	0,397	0,507	0,553	0,125	0,283
6	26,65	Satt227	0,343	0,251	0,167	0,362	0,17	0,219	0,169	0,488
	44,66	Satt422	0,654	0,662	0,094	0,373	0,574	0,741	0,069	0,032*
	113,42	Satt319	0,432	0,453	0,148	0,358	0,448	0,433	0,150	0,441
	117,76	Satt460	0,629	0,578	0,117	0,405	0,268	0,221	0,170	0,395
	128,22	Satt433	0,689	0,668	0,093	0,505	0,576	0,431	0,154	0,164
7	18,58	Satt150	0,284	0,455	0,144	0,153	0,108	0,554	0,123	0,002*
	66,98	Satt175	0,777	0,718	0,076	0,215	0,673	0,695	0,084	0,319
	112,79	Satt346	0,611	0,664	0,092	0,224	0,357	0,551	0,126	0,092
	133,83	Satt336	0,660	0,659	0,095	0,413	0,305	0,219	0,170	0,345

Tabela 7 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	predačka populacija			elitna populacija				
			He	Heq	SD	p	He	Heq	SD	p
8	162,03	Satt429	0,737	0,720	0,076	0,503	0,552	0,631	0,103	0,188
	14,35	Satt242	0,738	0,797	0,051	0,117	0,558	0,427	0,154	0,190
	43,34	Satt544	0,803	0,719	0,077	0,077	0,696	0,693	0,085	0,423
	52,88	Satt240	0,697	0,579	0,119	0,127	0,503	0,548	0,129	0,296
10	9,53	Satt487	0,808	0,660	0,095	0,001*	0,747	0,696	0,082	0,305
	39,82	Satt259	0,708	0,663	0,094	0,373	0,506	0,428	0,156	0,398
	55,81	Satt576	0,786	0,844	0,037	0,076	0,649	0,636	0,100	0,470
	93,37	Satt331	0,299	0,248	0,167	0,416	0,072	0,218	0,168	0,315
	100,37	Satt592	0,568	0,453	0,146	0,229	0,512	0,426	0,156	0,359
	119,5	Satt243	0,689	0,661	0,095	0,469	0,694	0,554	0,127	0,077
11	46,38	Satt197	0,730	0,719	0,076	0,466	0,404	0,551	0,125	0,138
12	91,12	Satt181	0,699	0,663	0,093	0,430	0,600	0,637	0,101	0,286
13	3,04	Satt343	0,834	0,796	0,051	0,231	0,539	0,636	0,100	0,148
	78,05	Satt334	0,720	0,663	0,093	0,303	0,333	0,551	0,127	0,074
	102,08	Satt144	0,356	0,457	0,144	0,236	0,122	0,217	0,168	0,420
14	73,2	Satt556	0,717	0,718	0,078	0,402	0,619	0,425	0,155	0,075
	87,58	Satt534	0,779	0,795	0,053	0,298	0,633	0,773	0,059	0,029*
15	12,92	Satt411	0,473	0,456	0,148	0,445	0,416	0,428	0,151	0,386
	19,29	Satt384	0,299	0,247	0,168	0,418	0,174	0,427	0,152	0,090
	45,4	Satt263	0,842	0,844	0,036	0,409	0,769	0,841	0,037	0,044*
16	39,63	Satt596	0,844	0,764	0,064	0,034*	0,730	0,636	0,103	0,160
17	53,84	Satt582	0,257	0,455	0,145	0,129	0,417	0,430	0,152	0,382
	79,23	Satt389	0,779	0,660	0,095	0,038*	0,557	0,695	0,083	0,069

Tabela 7 (nastavak)

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	predačka populacija			elitna populacija				
			He	Heq	SD	p	He	Heq	SD	p
18	12,54	Satt688	0,486	0,455	0,144	0,515	0,338	0,221	0,169	0,309
	12,74	Satt570	0,447	0,660	0,096	0,038*	0,507	0,429	0,155	0,396
	43,77	Satt115	0,317	0,581	0,116	0,040*	0,383	0,427	0,155	0,336
	56,52	Satt533	0,457	0,457	0,147	0,412	0,513	0,432	0,153	0,357
	62,16	Satt199	0,509	0,581	0,115	0,218	0,338	0,215	0,168	0,289
	69,87	Satt517	0,790	0,796	0,053	0,369	0,628	0,634	0,103	0,390
19	30,58	Satt398	0,724	0,662	0,092	0,269	0,544	0,552	0,125	0,390
	106,37	Satt513	0,584	0,580	0,119	0,421	0,372	0,550	0,127	0,104
	107,23	Satt373	0,810	0,824	0,042	0,291	0,449	0,696	0,083	0,019*
	36,94	Satt239	0,776	0,721	0,075	0,234	0,651	0,638	0,100	0,472
20	112,7	Satt440	0,763	0,720	0,075	0,326	0,564	0,555	0,124	0,451
		prosek	0,631	0,618			0,505	0,521		

He-očekivana heterozigotnost; Heq-heterozigotnost u uslovima ravnoteže genetičkog drifta i mutacija; SD-standardna devijacija

* $p < 0,05$

Tabela 8. Analiza genetičkog uskog grla primenom TPM modela mutacija za skup pozitivnih kandidat lokusa

Hromozom	Pozicija na mapi (cM)	Lokus	predačka populacija			elitna populacija				
			He	Heq	SD	p	He	Heq	SD	p
1	55,22	Satt295	0,350	0,661	0,093	0,010*	0,600	0,549	0,125	0,407
3	84,59	Satt234	0,343	0,246	0,166	0,349	0,496	0,222	0,169	0,068
6	112,19	Satt557	0,582	0,456	0,146	0,204	0,107	0,427	0,151	0,043*
	151,91	Satt357	0,694	0,764	0,062	0,123	0,091	0,552	0,126	0,001*
7	33,47	Satt567	0,600	0,458	0,143	0,150	0,415	0,554	0,124	0,137
	38,93	Satt435	0,773	0,798	0,052	0,251	0,335	0,638	0,099	0,012*
11	84,19	Satt583	0,830	0,823	0,043	0,492	0,322	0,426	0,154	0,245
15	32,09	Satt651	0,689	0,578	0,119	0,150	0,447	0,548	0,128	0,187
17	89,75	Satt464	0,485	0,579	0,117	0,184	0,246	0,424	0,153	0,160
		prosek	0,594	0,596			0,340	0,482*		

He-očekivana heterozigotnost; Heq-heterozigotnost u uslovima ravnoteže genetičkog drifta i mutacija; SD-standardna devijacija;

* $p < 0,05$

Tabela 9. Vrednosti parametara gametskog disekvilibrirajuma za vezane lokuse u analiziranim populacijama soje

Hromozom	Lokus 1	Pozicija 1	Lokus 2	Pozicija 2	Predačka populacija			Elitna populacija		
					r^2	D'	p -vrednost	r^2	D'	p -vrednost
1	Satt321	50,16	Satt295	55,22	0,1067	0,7031	0,2857	0,0731	0,3893	0,0070
	Satt321	50,16	Satt507	64,51	0,0947	0,5333	0,1429	0,1215	0,4652	0
	Satt321	50,16	Satt147	108,88	0,0724	0,4990	0,3333	0,0126	0,2416	0,3448
	Satt295	55,22	Satt507	64,51	0,0295	0,4167	0,5263	0,0689	0,4003	0,0230
	Satt295	55,22	Satt147	108,88	0,0245	0,4826	0,4348	0,0223	0,2691	0,7143
	Satt383	56,57	Satt321	50,16	0,1020	0,4825	0,0318	0,0431	0,4186	0,0009
	Satt383	56,57	Satt295	55,22	0,1226	0,6993	0,2857	0,3993	0,9599	0
	Satt383	56,57	Satt507	64,51	0,0308	0,2945	0,0840	0,1055	0,5820	0
	Satt383	56,57	Satt147	108,88	0,0356	0,3866	0,5263	0,0247	0,3293	0,2041
	Satt507	64,51	Satt147	108,88	0,0363	0,4123	0,3226	0,0383	0,3880	0,0943
2	Satt644	79,41	Satt558	43,91	0,1053	0,5125	0,0526	0,0655	0,5325	0,0292
3	Satt521	65,45	Satt084	36,86	0,0722	0,5641	0,0444	0,0218	0,2440	0,3704
	Satt521	65,45	Satt234	84,59	0,0694	0,6406	0,4348	0,2473	0,6465	0
	Satt234	84,59	Satt084	36,86	0,0540	0,5833	0,3125	0,0370	0,2356	0,4348
4	SOYGPATR	10,34	Satt190	73,32	0,0582	0,4078	0,1515	0,0240	0,2818	0,0185
	SOYGPATR	10,34	Satt338	123,79	0,0716	0,5034	0,0070	-	-	-
	Satt190	73,32	Satt338	123,79	0,0594	0,4682	0,2632	0,0449	0,3870	0,0295
5	Satt155	32,68	Satt385	64,73	0,0190	0,3178	0,8333	0,0147	0,2207	0,7143
	Satt155	32,68	Satt511	94,19	0,0509	0,3914	0,4000	0,0585	0,5161	0,0107
	Satt174	88,58	Satt155	32,68	0,0641	0,4530	0,0397	0,0206	0,3082	0,3125
	Satt174	88,58	Satt385	64,73	0,0458	0,5413	0,2174	0,0564	0,4315	0,0251
	Satt174	88,58	Satt511	94,19	0,0570	0,5379	0,0140	0,1092	0,6755	0
	Satt174	88,58	Satt211	95,95	0,2520	0,6758	0	0,0662	0,4966	0,0009
	Satt511	94,19	Satt385	64,73	0,0749	0,5715	0,0176	0,0311	0,3890	0,1515
	Satt211	95,95	Satt155	32,68	0,1529	0,4919	0,0060	0,0152	0,2136	0,5882
	Satt211	95,95	Satt385	64,73	0,0498	0,4750	0,1587	0,0228	0,2363	0,1219

Tabela 9 (nastavak)

Hromozom	Lokus 1	Pozicija 1	Lokus 2	Pozicija 2	Predačka populacija			Elitna populacija		
					r^2	D'	p-vrednost	r^2	D'	p-vrednost
5	Satt211	95,95	Satt511	94,19	0,0740	0,5250	0,0140	0,0256	0,3164	0,2326
	Satt227	26,65	Satt422	44,66	0,0054	0,1714	0,9091	0,0610	1,0000	0,4167
	Satt227	26,65	Satt460	117,76	0,0576	0,4600	0,2128	0,0078	0,2407	0,0752
	Satt422	44,66	Satt460	117,76	0,0318	0,2927	0,3448	-	-	-
	Satt557	112,19	Satt227	26,65	0,0131	0,2889	0,7143	-	-	-
	Satt557	112,19	Satt422	44,66	0,0544	0,4353	0,2083	-	-	-
	Satt557	112,19	Satt460	117,76	0,0586	0,3429	0,0286	-	-	-
	Satt319	113,42	Satt357	151,91	0,1588	0,5817	0,0180	-	-	-
	Satt319	113,42	Satt227	26,65	0,0154	0,4167	0,9091	0,0217	0,6094	0,2128
	Satt319	113,42	Satt422	44,66	0,0662	0,6417	0,0719	0,0149	0,2889	0,8333
	Satt319	113,42	Satt557	112,19	0,1755	0,5833	0,0050	-	-	-
	Satt319	113,42	Satt460	117,76	0,0450	0,4727	0,7143	0,0395	0,7236	0,0415
	Satt319	113,42	Satt433	128,22	0,0221	0,2593	0,1923	0,0174	0,3109	0,2041
	Satt319	113,42	Satt357	151,91	0,0730	0,5476	0,0885	-	-	-
	Satt433	128,22	Satt227	26,65	0,0157	0,3611	0,9091	0,0208	0,5048	0,2326
Satt433	128,22	Satt422	44,66	0,0600	0,4020	0,4348	0,1182	0,4965	0,0089	
Satt433	128,22	Satt557	112,19	0,1312	0,5901	0,2631	-	-	-	
Satt433	128,22	Satt460	117,76	0,1241	0,5873	0,0286	0,1171	0,7428	0,0019	
Satt433	128,22	Satt357	151,91	-	-	-	-	-	-	
Satt357	151,91	Satt227	26,65	0,0331	0,3548	0,4000	-	-	-	
Satt357	151,91	Satt422	44,66	0,0615	0,4715	0,1389	-	-	-	
Satt357	151,91	Satt460	117,76	0,0593	0,5409	0,0990	-	-	-	
Satt150	18,58	Satt567	33,47	0,0584	0,4565	0,0374	-	-	-	
Satt150	18,58	Satt175	66,98	0,0483	0,5916	0,2326	-	-	-	
Satt150	18,58	Satt346	112,79	0,0306	0,4719	0,1075	-	-	-	
Satt150	18,58	Satt336	133,83	0,0275	0,3633	0,2632	-	-	-	

Tabela 9 (nastavak)

Hromozom	Lokus 1	Pozicija 1	Lokus 2	Pozicija 2	Predačka populacija			Elitna populacija		
					r^2	D'	p -vrednost	r^2	D'	p -vrednost
7	Satt435	38,93	Satt150	18,58	0,0911	0,8656	0,0709	-	-	-
	Satt435	38,93	Satt567	33,47	0,1174	0,6079	0,0163	0,3300	0,9158	0
	Satt435	38,93	Satt175	66,98	0,1174	0,6262	0,0080	-	-	-
	Satt435	38,93	Satt346	112,79	0,0533	0,5039	0,0662	0,0066	0,1667	0,1235
	Satt435	38,93	Satt336	133,83	0,0392	0,3897	0,2632	0,0311	0,2381	0,5556
	Satt175	66,98	Satt567	33,47	0,0350	0,3276	0,0625	0,0511	0,5178	0,0282
	Satt175	66,98	Satt336	133,83	0,0595	0,4262	0,2564	0,0321	0,4845	0,0409
	Satt346	112,79	Satt567	33,47	0,0727	0,5056	0,2631	0,0653	0,3454	0,2778
	Satt346	112,79	Satt175	66,98	0,0462	0,5020	0,0676	-	-	-
	Satt346	112,79	Satt336	133,83	0,2194	0,6839	0,0019	0,0248	0,1901	0,3448
	Satt336	133,83	Satt567	33,47	0,1138	0,5119	0,0228	0,0499	0,3071	0,1923
	Satt197	46,38	Satt583	84,19	0,0579	0,6338	0,1408	0,0037	0,1125	0,6250
	9	Satt242	14,35	Satt544	43,34	0,0338	0,4692	0,5263	0,0281	0,3352
Satt240		52,88	Satt242	14,35	0,0942	0,6270	0,0049	0,0251	0,2758	0,0935
Satt240		52,88	Satt544	43,34	0,0891	0,6691	0,0089	0,0991	0,5845	0
Satt487		9,53	Satt259	39,82	0,0670	0,5558	0,0535	0,0779	0,5281	0,0009
10	Satt487	9,53	Satt576	55,81	0,0580	0,6635	0,1852	-	-	-
	Satt487	9,53	Satt243	119,5	-	-	-	0,0542	0,4859	0,0223
	Satt259	39,82	Satt576	55,81	0,0706	0,5960	0,0485	0,2075	0,5799	0
	Satt259	39,82	Satt243	119,5	0,0396	0,4547	0,5000	0,0429	0,3909	0,0862
	Satt331	93,37	Satt487	9,53	0,0253	0,3217	0,2778	-	-	-
	Satt331	93,37	Satt259	39,82	0,0404	0,5086	0,6667	-	-	-
	Satt331	93,37	Satt576	55,81	0,0214	0,4575	0,7692	-	-	-
	Satt331	93,37	Satt592	100,37	0,0999	0,6706	0,2564	-	-	-
	Satt331	93,37	Satt243	119,5	0,0152	0,3895	0,9091	-	-	-
	Satt592	100,37	Satt487	9,53	0,0299	0,3634	0,4762	0,0097	0,2342	0,9091

Tabela 9 (nastavak)

Hromozom	Lokus 1	Pozicija 1	Lokus 2	Pozicija 2	Predačka populacija			Elitna populacija		
					r^2	D'	p -vrednost	r^2	D'	p -vrednost
10	Satt592	100,37	Satt259	39,82	0,1259	0,5833	0,0069	0,0047	0,1037	0,4000
	Satt592	100,37	Satt576	55,81	0,0437	0,4797	0,5556	0,0218	0,2535	0,4348
	Satt592	100,37	Satt243	119,5	0,0673	0,4814	0,4167	0,0549	0,3671	0,4348
	Satt243	119,5	Satt576	55,81	0,0389	0,4923	0,5263	0,0342	0,3504	0,1695
	Satt556	73,2	Satt534	87,58	0,0831	0,4680	0,2703	0,0619	0,5286	0,0009
13	Satt343	3,04	Satt334	78,05	0,1134	0,7593	0	-	-	-
	Satt144	102,08	Satt343	3,04	0,0277	0,4925	0,2857	0,0172	0,3235	0,4762
	Satt144	102,08	Satt334	78,05	0,0416	0,4697	0,1123	0,0065	0,1534	0,4762
	Satt411	12,92	Satt651	32,09	0,0243	0,3462	0,5882	0,2085	0,6494	0,0009
15	Satt411	12,92	Satt263	45,4	0,0495	0,5520	0,2857	0,0253	0,3619	0,6667
	Satt384	19,29	Satt411	12,92	0,0202	0,2696	0,3448	0,1238	0,9167	0,0134
	Satt384	19,29	Satt651	32,09	0,0304	0,3474	0,1515	0,0671	0,8385	0,0819
	Satt384	19,29	Satt263	45,4	0,0509	0,6095	0,0709	0,0639	1,0000	0,2222
	Satt651	32,09	Satt263	45,4	0,0352	0,4189	0,3226	0,0229	0,2832	0,5556
17	Satt389	79,23	Satt582	53,84	0,0802	0,9004	0,0286	0,0841	0,4364	0,0559
	Satt464	89,75	Satt582	53,84	0,0254	1,0000	0,9091	0,0064	0,3376	0,6667
	Satt464	89,75	Satt389	79,23	0,0750	0,5739	0,0488	0,0739	0,7801	0,1219
	Satt688	12,54	Satt570	12,74	-	-	-	0,1828	0,8730	0,0009
18	Satt688	12,54	Satt115	43,77	0,0869	1,0000	0,3571	0,0149	0,4140	0,8333
	Satt688	12,54	Satt533	56,52	0,1951	1,0000	0,0794	0,0465	0,4391	0,5556
	Satt688	12,54	Satt199	62,16	-	-	-	0,0192	1,0000	0,9091
	Satt688	12,54	Satt517	69,87	0,0926	0,5000	0,0568	0,0164	0,2297	0,1562
	Satt570	12,74	Satt199	62,16	0,0084	0,2076	0,6667	-	-	-
	Satt115	43,77	Satt570	12,74	0,0230	0,2857	0,2041	0,0062	0,2001	0,9091
15	Satt115	43,77	Satt533	56,52	0,1216	0,5019	0,1695	0,1257	0,7366	0,0059
	Satt115	43,77	Satt199	62,16	0,0036	0,1579	0,9091	0,0192	1,0000	0,9091

Tabela 9 (nastavak)

Hromozom	Lokus 1	Pozicija 1	Lokus 2	Pozicija 2	Predačka populacija			Elitna populacija		
					r^2	D'	p -vrednost	r^2	D'	p -vrednost
18	Satt533	56,52	Satt570	12,74	0,3191	0,6899	0,0019	0,0822	0,3241	0,0917
	Satt533	56,52	Satt199	62,16	0,0519	0,4474	0,1136	-	-	-
	Satt517	69,87	Satt570	12,74	-	-	-	0,0678	0,3327	0,2703
	Satt517	69,87	Satt115	43,77	0,0184	0,4436	0,6250	0,0217	0,4017	0,3448
	Satt517	69,87	Satt533	56,52	0,0415	0,5434	0,5556	0,0801	0,4143	0,0089
	Satt517	69,87	Satt199	62,16	0,1729	0,7639	0,0106	-	-	-
19	Satt398	30,58	Satt513	106,37	0,0251	0,3780	0,8333	0,0155	0,2519	0,2778
	Satt373	107,23	Satt398	30,58	0,0679	0,5732	0,3571	0,0139	0,2847	0,5556
	Satt373	107,23	Satt513	106,37	0,1211	0,7500	0	0,4284	0,8556	0
20	Satt239	36,94	Satt440	112,7	0,0349	0,4771	0,4348	0,0467	0,3912	0,1471

Tabela 10. Izvod QTL iz SoyBase (2015)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt295	Seed oil 23-2	17,52	56,20	Seed oil content	QTL-oil
	Seed weight 18-1.1	17,52	107,89	Seed weight	QTL-other-seed
	Pod wall weight 1-1	30,69	60,99	unknown	QTL-pod
	First flower 16-1	39,86	55,86	First flower	QTL-reprod-period
	Seed weight 15-2	42,00	88,20	Seed weight	QTL-other-seed
	shoot weight, fresh 1-3	43,84	55,44	Shoot Weight	QTL-whole-plant
	Lodging 25-3	44,80	67,60	Lodging	QTL-whole-plant
	Lodging 26-3	44,80	67,60	Lodging	QTL-whole-plant
	Pubescence density 2-4	49,59	65,09	Pubescence Density	QTL-whole-plant
	Seed weight 35-10	49,84	56,57	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed tocopherol, delta 1-2	55,20	57,20	unknown	QTL-other-seed
	Seed N at R7 1-2	55,57	57,57	Seed nitrogen content at growth stage R7	QTL-other-seed
	Seed oil 24-19	56,43	59,00	Seed oil content	QTL-oil
	Pod wall weight 1-5	56,57	57,75	unknown	QTL-pod
	Root morphology 1-1	56,57	62,36	Root Morphology	QTL-root
	Seed weight 34-11	56,57	69,91	Seed weight	QTL-other-seed
	Satt234	Leaflet chlorophyll 1-3	84,54	102,05	unkonwn
Plant weight 3-1		71,46	87,56	Plant weight	QTL-whole-plant
Pod number 1-2		84,59	87,34	Pod Number	QTL-pod
Pod wall to Pod weight ratio 1-4		59,40	102,05	unknown	QTL-pod
Seed length 1-4		84,59	102,05	Seed length	QTL-other-seed
Seed linoleic 6-1		77,09	102,05	Seed linoleic acid content	QTL-oil
Seed oleic 6-1		77,09	102,05	Seed oleic acid content	QTL-oil
Seed weight 25-3		78,51	84,51	Seed weight	QTL-other-seed
Seed weight per plant 1-4		78,51	83,01	Seed weight per plant	QTL-yield
Whitefly resistance 1-3		77,09	102,05	Reaction to Bemisia tabaci damage	QTL-insect

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt357	Plant height 27-1	145,47	151,91	Plant Height	QTL-whole-plant
	SDS 1-1	149,00	151,00	Reaction to Fusarium solani f sp glycines infection	QTL-fungal
	SDS 2-5	149,00	151,00	Reaction to Fusarium solani f sp glycines infection	QTL-fungal
	Phytoph 5-1	42,36	112,90	Reaction to Phytophthora sojae infection	QTL-fungal
	Sclero 7-2	98,07	113,62	Reaction to Sclerotinia sclerotiorum infection	QTL-fungal
	Shoot fresh to dry weight ratio 1-2	98,07	118,57	Shoot Weight	QTL-whole-plant
	Seed glycitein 10-1	98,33	116,83	Seed glycitein content	QTL-other-seed
	Photoperiod insensitivity 2-1	101,75	112,20	Photoperiod sensitivity	QTL-reprod-period
	Pod maturity, beginning 2-1	101,75	112,20	R7 Beginning Maturity	QTL-reprod-period
	Pod, beginning 2-1	101,75	112,20	R3 Beginning pod	QTL-pod
	Seed yield 22-12	101,75	111,68	Yield	QTL-yield
	Seed number 2-2	105,00	112,45	Seed Number	QTL-yield
	Seed weight 16-2	105,00	112,45	Seed weight	QTL-other-seed
	Pod number 3-3	106,58	111,60	Pod Number	QTL-pod
	Pod number 3-4	106,58	116,80	Pod Number	QTL-pod
Satt557	Flood tolerance 4-1	107,58	123,37	Flooding Tolerance	QTL-inorganic
	Phytoph 6-7	107,58	111,68	Reaction to Phytophthora sojae infection	QTL-fungal
	Pod wall width 1-3	107,58	126,20	unknown	QTL-pod
	Rag 4-1	107,58	113,95	unknown	QTL-insect
	SDS 11-1	107,58	117,87	Reaction to Fusarium solani f sp glycines infection	QTL-fungal
	Seed length 1-5	107,58	113,38	Seed length	QTL-other-seed
	Seed oil plus protein 1-3	107,58	112,34	Seed oil plus protein content	QTL-oil
	Seed weight 34-16	107,58	121,26	Seed weight	QTL-other-seed
	Somatic emb per explant 4-2	107,58	127,46	Somatic embryos per explant	QTL-misc
	Seed oil 23-1	107,59	117,77	Seed oil content	QTL-oil
	Seed weight 15-1	107,60	119,80	Seed weight	QTL-other-seed

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija	Osobina	Kategorija
	Seed weight 16-1	109,00	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed weight 19-1	109,00	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed daidzein 10-1	109,03	Seed daidzein content	QTL-other-seed
	First flower 23-1	109,20	First flower	QTL-reprod-period
	Seed yield 19-1	109,26	Yield	QTL-yield
	Seed genistein 10-1	109,84	Seed genistein content	QTL-other-seed
	Seed isoflavone 8-1	110,10	Seed isoflavone content	QTL-other-seed
	Carbon isotope discrimination 1-2	110,70	Carbon Isotope Discrimination	QTL-leaf-stem
	Corn earworm 8-3	110,70	Reaction to Helicoverpa zea damage	QTL-insect
	First flower 4-1	110,70	First flower	QTL-reprod-period
	Leaflet area 4-1	110,70	Leaflet Area	QTL-leaf-stem
	Leaflet width 3-1	110,70	Leaflet Width	QTL-leaf-stem
	Lodging 9-1	110,70	Lodging	QTL-whole-plant
Satt557	Pod maturity 8-1	110,70	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	First flower 20-1	111,00	First flower	QTL-reprod-period
	Photoperiod insensitivity 3-1	111,19	Photoperiod sensitivity	QTL-reprod-period
	Photoperiod insensitivity 4-1	111,19	Photoperiod sensitivity	QTL-reprod-period
	Pod maturity 13-4	111,19	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed yield 19-3	111,19	Yield	QTL-yield
	Seed yield 23-5	111,19	Yield	QTL-yield
	Seed yield 11-2	111,20	Yield	QTL-yield
	Branching 3-1	111,30	Branching	QTL-whole-plant
	First flower 22-2	111,34	First flower	QTL-reprod-period
	Pod maturity 14-3	111,84	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed yield 16-3	111,84	Yield	QTL-yield
	Seed yield 22-2	111,84	Yield	QTL-yield
	Plant height 18-4	111,84	Plant Height	QTL-whole-plant

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt557	Seed coat color 1-3	112,00	113,95	Seed Coat Color	QTL-other-seed
	First flower 10-1	112,10	123,60	First flower	QTL-reprod-period
	First flower 9-1	112,10	123,60	First flower	QTL-reprod-period
	Photoperiod insensitivity 1-1	112,10	123,60	Photoperiod sensitivity	QTL-reprod-period
	Pod maturity, beginning 1-1	112,10	123,60	R7 Beginning Maturity	QTL-reprod-period
	Pod, beginning 1-1	112,10	123,60	R3 Beginning pod	QTL-pod
	Seed weight 34-15	112,19	113,38	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed oil 27-6	112,38	114,38	Seed oil content	QTL-oil
	Seed oleic 3-1	112,38	114,38	Seed oleic acid content	QTL-oil
	Plant height 23-2	112,38	114,38	Plant Height	QTL-whole-plant
	Seed palmitic 4-1	112,38	114,38	Seed palmitic acid content	QTL-oil
	First flower 12-2	112,40	114,40	First flower	QTL-reprod-period
	First flower 5-1	112,40	114,40	First flower	QTL-reprod-period
	Lodging 18-2	112,40	114,40	Lodging	QTL-whole-plant
	Lodging 8-2	112,40	114,40	Lodging	QTL-whole-plant
	Node number 2-2	112,40	114,40	Node Number	QTL-whole-plant
	Pod maturity 10-1	112,40	114,40	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed genistein 2-1	112,40	113,40	Seed genistein content	QTL-other-seed
	Seed isoflavone 1-2	112,40	113,40	Seed isoflavone content	QTL-other-seed
	Seed yield to weight ratio 3-2	112,40	114,40	Seed Number	QTL-yield
	Plant height 10-1	112,40	114,40	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 13-2	112,40	114,40	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 21-2	112,40	114,40	Plant Height	QTL-whole-plant
	Reproductive stage length 4-2	112,40	114,40	Reproductive stage	QTL-reprod-period
	Seed glycitein 6-2	112,41	120,01	Seed glycitein content	QTL-other-seed
	Pod maturity 15-3	112,45	112,83	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt557	Seed yield 17-2	112,45	112,80	Yield	QTL-yield
	Plant height 19-3	112,45	112,83	Plant Height	QTL-whole-plant
	Flood tolerance 4-10	112,62	114,62	Flooding Tolerance	QTL-inorganic
	First flower 8-1	112,70	114,70	First flower	QTL-reprod-period
	Leaflet shape 1-2	112,70	114,70	Leaflet Shape	QTL-leaf-stem
	Seed daidzein 5-2	112,77	114,47	Seed daidzein content	QTL-other-seed
	Drought index 1-2	112,83	112,84	Drought Susceptibility Index	QTL-misc
	Pod maturity 21-1	112,83	126,23	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Pod maturity 32-2	112,83	113,95	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed oil plus protein 1-2	112,83	126,23	Seed oil plus protein content	QTL-oil
	Seed yield 22-13	112,83	112,84	Yield	QTL-yield
	Seed yield 22-14	112,83	112,84	Yield	QTL-yield
	Plant height 31-1	112,83	117,76	Plant Height	QTL-whole-plant
	Sclero 7-1	112,84	117,45	Reaction to Sclerotinia sclerotiorum infection	QTL-fungal
	Seed protein 28-1	112,90	114,90	Seed protein content	QTL-protein
	First flower 18-1	112,95	114,95	First flower	QTL-reprod-period
	Lodging 27-3	112,95	114,95	Lodging	QTL-whole-plant
	Node number 4-2	112,95	114,95	Node Number	QTL-whole-plant
	Pod maturity 25-1	112,95	114,95	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Pod maturity 28-4	112,95	114,95	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Pod number 5-1	112,95	114,95	Pod Number	QTL-pod
	Pod number 7-1	112,95	114,95	Pod Number	QTL-pod
	Pods per node 3-1	112,95	114,95	Pods Per Node	QTL-pod
	Seed oil 31-2	112,95	114,95	Seed oil content	QTL-oil
	Seed oil 33-1	112,95	114,95	Seed oil content	QTL-oil
	Seed oil 38-2	112,95	114,95	Seed oil content	QTL-oil

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt557	Seed oligosaccharide 2-2	112,95	114,95	Seed soluble oligosaccharides	QTL-other-seed
	Seed protein 29-1	112,95	114,95	Seed protein content	QTL-protein
	Seed protein 35-2	112,95	114,95	Seed protein content	QTL-protein
	Seed set 4-1	112,95	114,95	Seed Set	QTL-yield
	Seed weight 31-1	112,95	114,95	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed weight 40-3	112,95	114,95	Seed weight	QTL-other-seed
	Seed yield 25-4	112,95	114,95	Yield	QTL-yield
	Seed yield 28-4	112,95	114,95	Yield	QTL-yield
	Seed, beginning 3-1	112,95	114,95	R5 Beginning Seed	QTL-reprod-period
	Plant height 29-1	112,95	114,95	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 30-1	112,95	114,95	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 35-2	112,95	114,95	Plant Height	QTL-whole-plant
	First flower 7-1	113,00	115,00	First flower	QTL-reprod-period
	Leaflet shape 8-5	113,00	115,00	Leaflet Shape	QTL-leaf-stem
	Leaflet shape 9-4	113,00	115,00	Leaflet Shape	QTL-leaf-stem
	Phytoph 6-6	113,38	113,95	Reaction to Phytophthora sojae infection	QTL-fungal
	Seed yield 22-11	113,41	113,62	Yield	QTL-yield
	First flower 3-1	113,80	115,80	First flower	QTL-reprod-period
	Lodging 3-2	113,80	115,80	Lodging	QTL-whole-plant
	Seed number 1-2	113,80	115,80	Seed Number	QTL-yield
Seed weight	113,95	117,76	Seed weight	QTL-other-seed	
Seed weight 35-2	113,95	117,76	Seed weight	QTL-other-seed	
Phomopsis seed decay 3-1	113,95	117,76	Reaction to Diaporthe longicolla Infection	QTL-fungal	
Pod maturity 18-4	18,58	40,35	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period	
Satt567-Satt435	Seed height 1-7	18,58	33,47	Seed height	QTL-other-seed
	Seed length 1-6	18,58	33,47	Seed length	QTL-other-seed

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt567-Satt435	Seed volume 1-6	18,58	33,47	Seed volume	QTL-other-seed
	Seed width 1-5	18,58	33,47	Seed width	QTL-other-seed
	Seed yield 19-4	18,58	40,35	Yield	QTL-yield
	Seed glycitein 2-7	25,00	43,00	Seed glycitein content	QTL-other-seed
	Plant height 18-6	32,47	34,47	Plant Height	QTL-whole-plant
	Pod maturity 14-4	32,47	34,47	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed Glu 1-6	32,47	34,47	Seed glutamine content	QTL-protein
	Seed Leu 1-6	32,47	34,47	Seed leucine content	QTL-protein
	Seed Ser 1-6	32,47	34,47	Seed serine content	QTL-protein
	Corn earworm 8-2	32,50	34,50	Reaction to Helicoverpa zea damage	QTL-insect
	First flower 6-1	32,50	34,50	First flower	QTL-reprod-period
	Plant height 13-9	32,50	34,50	Plant Height	QTL-whole-plant
	Pod maturity 10-2	32,50	34,50	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Reproductive stage length 4-3	32,50	34,50	Reproductive stage	QTL-reprod-period
	Seed protein 12-4	32,50	34,50	Seed protein content	QTL-protein
	Seed protein 13-3	32,50	34,50	Seed protein content	QTL-protein
	Seed yield 17-5	33,40	50,10	Yield	QTL-yield
	Common cutworm 1-2	33,47	50,10	Reaction to Spodoptera litura damage	QTL-insect
	Plant height 19-5	33,47	50,09	Plant Height	QTL-whole-plant
	Pod maturity 15-1	33,47	50,09	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed yield 17-4	33,47	50,09	Yield	QTL-yield
	Seed genistein 3-4	34,84	36,84	Seed genistein content	QTL-other-seed
	Seed glycitein 3-2	34,84	36,84	Seed glycitein content	QTL-other-seed
	Seed isoflavone 2-5	34,84	36,84	Seed isoflavone content	QTL-other-seed
	Seed yield to weight ratio 1-1	34,85	36,85	Seed Number	QTL-yield
	Reproductive stage length 5-4	35,84	38,93	Reproductive stage	QTL-reprod-period

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt567-Satt435	Seed oil 23-6	35,85	49,90	Seed oil content	QTL-oil
	Seed protein 24-4	35,85	50,10	Seed protein content	QTL-protein
	Seed abortion 1-4	36,00	38,00	Embryo Abortion	QTL-yield
	Phytoph 14-8	36,71	63,37	Reaction to Phytophthora sojae infection	QTL-fungal
	Rag 3-1	36,76	48,86	unkonwn	QTL-insect
	Seed genistein 2-3	37,00	50,00	Seed genistein content	QTL-other-seed
	Seed isoflavone 1-7	37,00	56,40	Seed isoflavone content	QTL-other-seed
	First flower 3-2	37,98	39,98	First flower	QTL-reprod-period
	Leaflet area 6-1	37,98	39,98	Leaflet Area	QTL-leaf-stem
	Leaflet area 7-1	37,98	39,98	Leaflet Area	QTL-leaf-stem
	Leaflet width 2-1	37,98	39,98	Leaflet Width	QTL-leaf-stem
	Leaflet width 5-4	37,98	39,98	Leaflet Width	QTL-leaf-stem
	Plant height 2-1	37,98	39,98	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 3-3	37,98	39,98	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height 6-5	37,98	39,98	Plant Height	QTL-whole-plant
	Plant height to Lodging ratio 1-1	37,98	39,98	Height/Lodging	QTL-whole-plant
	Plant height to Lodging ratio 4-1	37,98	39,98	Height/Lodging	QTL-whole-plant
	Pod maturity 3-1	37,98	39,98	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Pod maturity 4-2	37,98	39,98	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Pod maturity 7-1	37,98	39,98	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Reproductive stage length 1-2	37,98	39,98	Reproductive stage	QTL-reprod-period
	Seed number 1-1	37,98	39,98	Seed Number	QTL-yield
	Seed oil to protein ratio 1-2	37,98	39,98	Seed oil/protein ratio	QTL-oil
	Seed protein 7-1	37,98	39,98	Seed protein content	QTL-protein
	Seed yield 3-1	37,98	39,98	Yield	QTL-yield
	Leaflet area 8-2	38,98	58,50	Leaflet Area	QTL-leaf-stem

Tabela 10 (nastavak)

Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt567-Satt435	Pod maturity 2-1	38,98	58,50	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed fill 2-2	38,98	58,50	Seed filling period	QTL-reprod-period
	Seed yield 1-2	38,98	58,50	Yield	QTL-yield
	Canopy height 2-1	39,00	58,50	Canopy Height	QTL-whole-plant
	First flower 2-2	39,00	58,50	First flower	QTL-reprod-period
	Plant height 2-4	39,35	41,35	Plant Height	QTL-whole-plant
	Pod maturity 3-2	39,35	41,35	R8 Full Maturity	QTL-reprod-period
	Seed oil 25-2	39,35	41,35	Seed oil content	QTL-oil
	Seed yield 2-1	39,35	41,35	Yield	QTL-yield
	Pod wall width 1-7	36,48	93,88	unkonwn	QTL-pod
Satt583	Reproductive stage length 8-1	57,91	84,19	Reproductive stage	QTL-reprod-period
	SCN 23-1	64,77	84,19	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	SCN 24-1	64,77	84,19	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	SCN 32-2	73,76	85,91	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	Seed weight 36-11	79,19	89,19	Seed weight	QTL-other-seed
	Internode length 1-7	80,38	83,38	Internode length	QTL-whole-plant
	SCN 17-1	84,19	100,99	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	SCN 18-2	84,19	100,99	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	SCN 20-1	84,19	100,99	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	Flower number 1-7	15,86	34,20	Flower Number	QTL-whole-plant
Satt651	Seed oil 24-24	28,27	35,79	Seed oil content	QTL-oil
	Fusarium lesion length 1-4	29,03	38,73	Reaction to Fusarium infection	QTL-fungal
	Seed protein 3-6	29,88	31,88	Seed protein content	QTL-protein
	cqSeed protein-001	29,89	31,89	Seed protein content	QTL-protein
	Chlorimuron sensitivity 1-3	29,90	31,90	Chlorimuron Ethyl Sensitivity	QTL-misc
	Seed linolenic 1-5	29,90	31,90	Seed linoleic acid content	QTL-oil

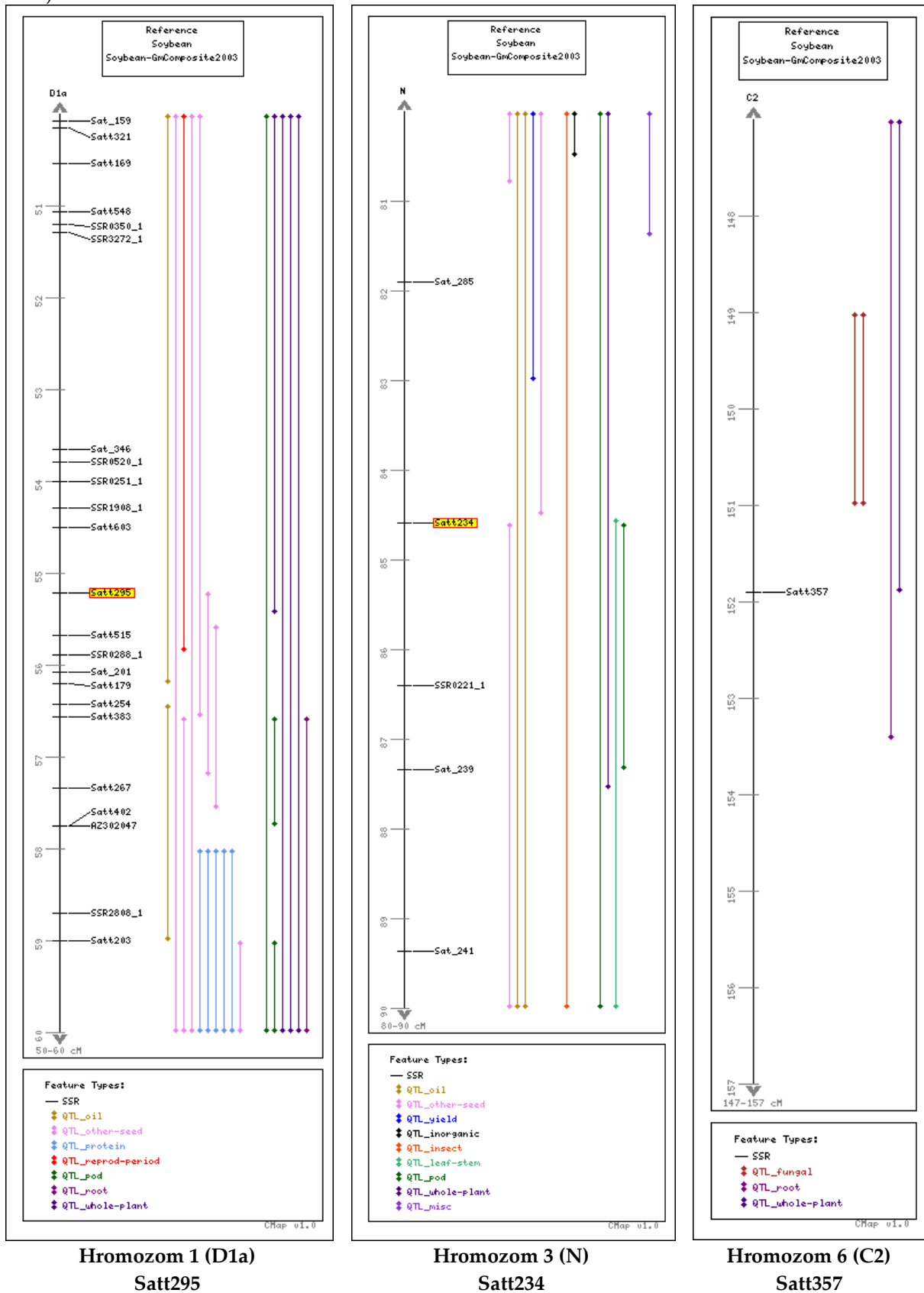
Tabela 10 (nastavak)

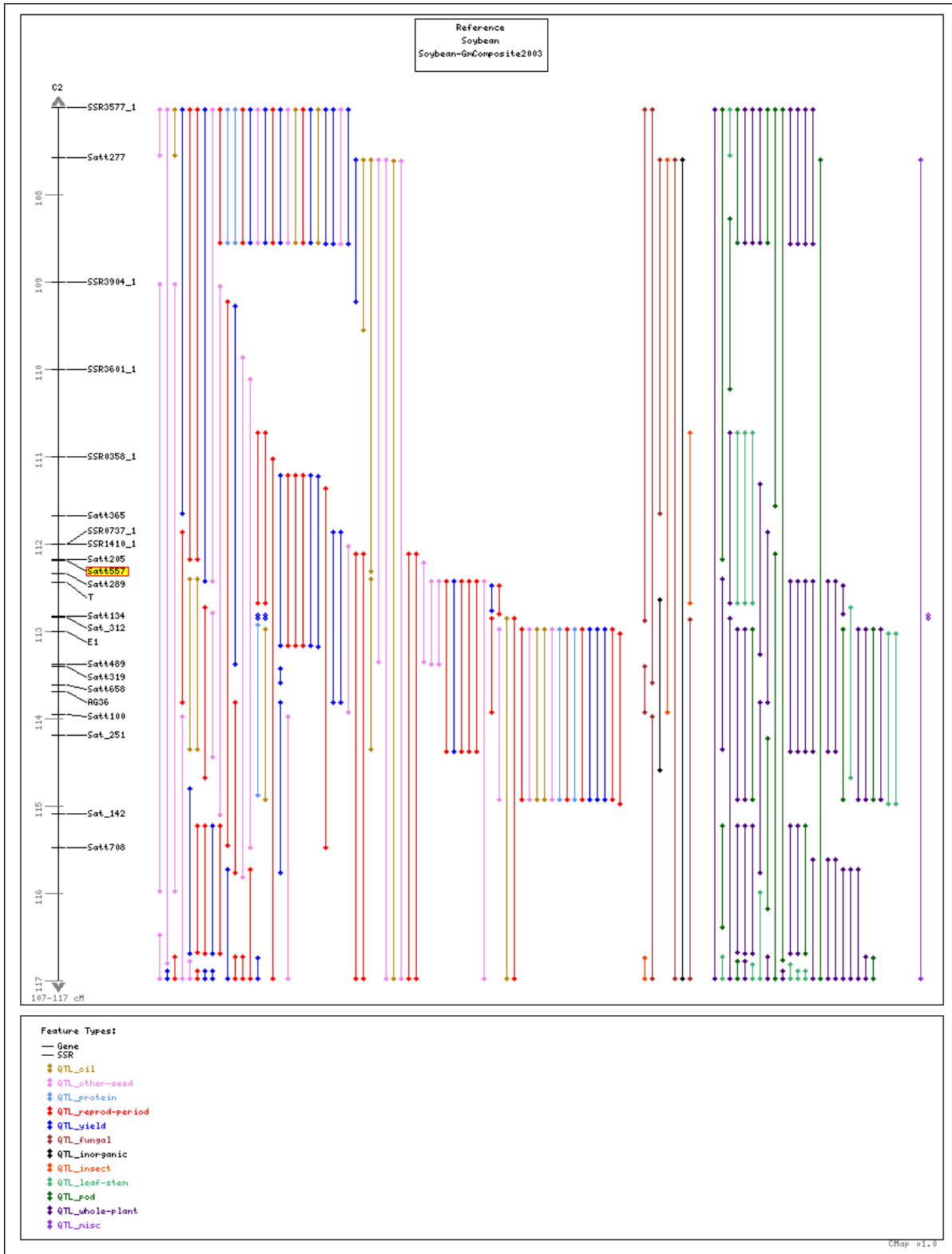
Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt651	Seed oil 2-4	29,90	31,90	Seed oil content	QTL-oil
	Seed protein 5-1	29,90	31,90	Seed protein content	QTL-protein
	Nodule number 1-2	31,27	49,27	unknown	QTL-root
	Plant height 29-4	31,27	33,27	Plant Height	QTL-whole-plant
	Seed oil 27-2	31,27	33,27	Seed oil content	QTL-oil
	Seed weight 29-2	31,27	33,27	Seed weight	QTL-other-seed
	Shoot weight, dry 2-1	31,27	49,27	unknown	QTL-whole-plant
	Leaflet shape 7-4	31,30	33,30	Leaflet Shape	QTL-leaf-stem
	Leaflet shape 8-8	31,30	33,30	Leaflet Shape	QTL-leaf-stem
	Phytolph 5-2	32,09	34,20	Reaction to Phytolphthora sojae infection	QTL-fungal
	Seed oleic 6-6	32,09	47,50	Seed oleic acid content	QTL-oil
	Seed palmitic 6-3	32,09	34,09	Seed palmitic acid content	QTL-oil
	Seed yield 16-5	32,47	34,47	Yield	QTL-yield
	SCN 22-3	33,22	35,20	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
	Seed linolenic 1-3	33,62	35,62	Seed linoleic acid content	QTL-oil
	Seed oil 2-9	33,62	35,62	Seed oil content	QTL-oil
	Satt464	Seed oil 24-8	84,18	92,12	Seed oil content
Phytolph 9-5		85,69	93,77	Reaction to Phytolphthora sojae infection	QTL-fungal
Seed yield 26-1		85,69	89,19	Yield	QTL-yield
SCN 16-1		86,25	88,25	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
Al tolerance 3-3		86,42	95,42	Aluminum Tolerance	QTL-inorganic
Al tolerance 3-8		86,42	95,55	Aluminum Tolerance	QTL-inorganic
Phytolph 11-20		86,66	88,66	Reaction to Phytolphthora sojae infection	QTL-fungal
cqSCN-005		87,01	89,01	Reaction to Heterodera glycines damage	QTL-nematode
Sclero 2-9		87,02	89,02	Reaction to Sclerotinia sclerotiorum infection	QTL-fungal
Seed oleic 6-9		87,55	93,70	Seed oleic acid content	QTL-oil

Tabela 10 (nastavak)

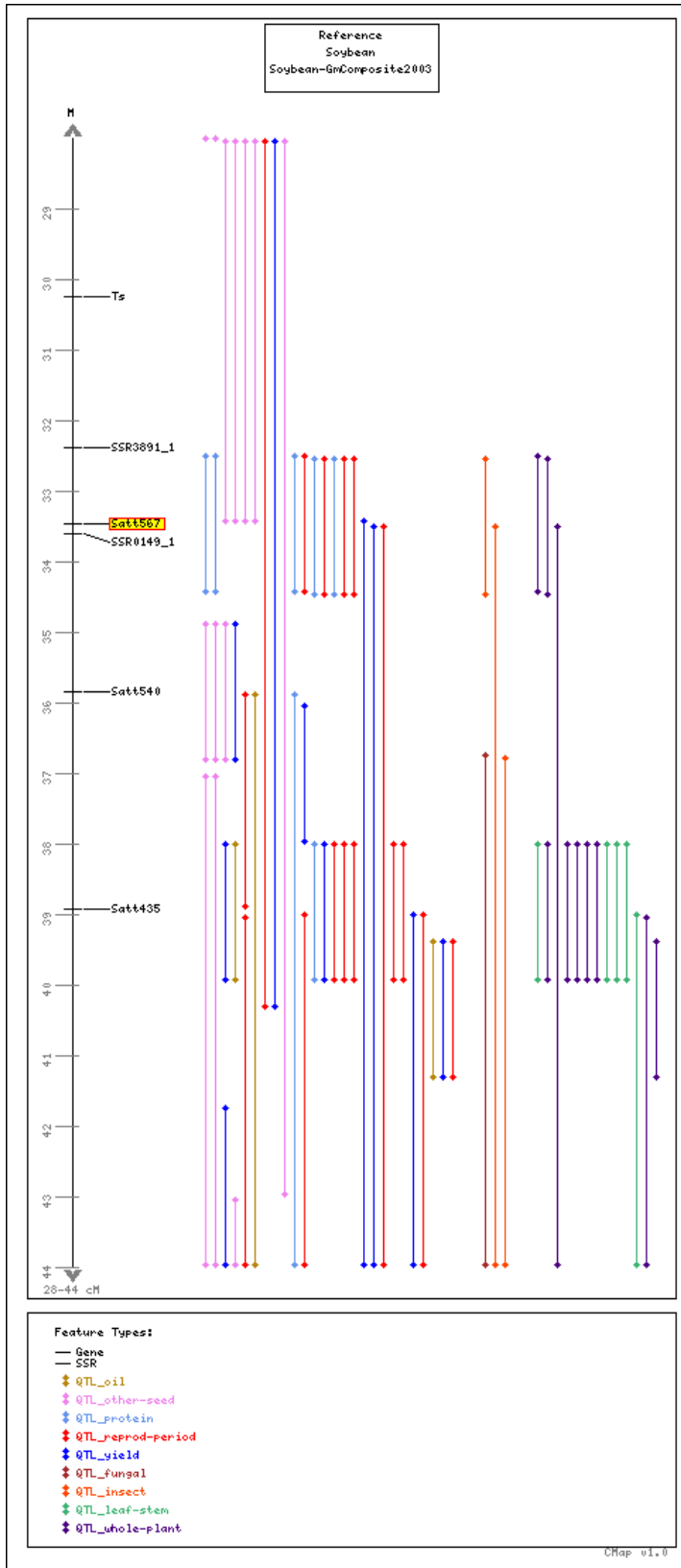
Lokus	QTL	Pozicija		Osobina	Kategorija
		Početak	Kraj		
Satt464	SDS 11-2	87,66	92,12	Reaction to <i>Fusarium solani</i> f sp glycyces infection	QTL-fungal
	Phytoph 12-2	88,01	93,41	Reaction to <i>Phytophthora sojae</i> infection	QTL-fungal
	Sclero 4-2	88,02	93,71	Reaction to <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> infection	QTL-fungal

Slika 1. Grafički prikaz genomske lokacije selektivno značajnih regiona i mapirajućih intervala poznatih QTL-ova soje, na osnovu genetičke mape "Composite 2003" (Song i sar., 2004; SoyBase, 2015)

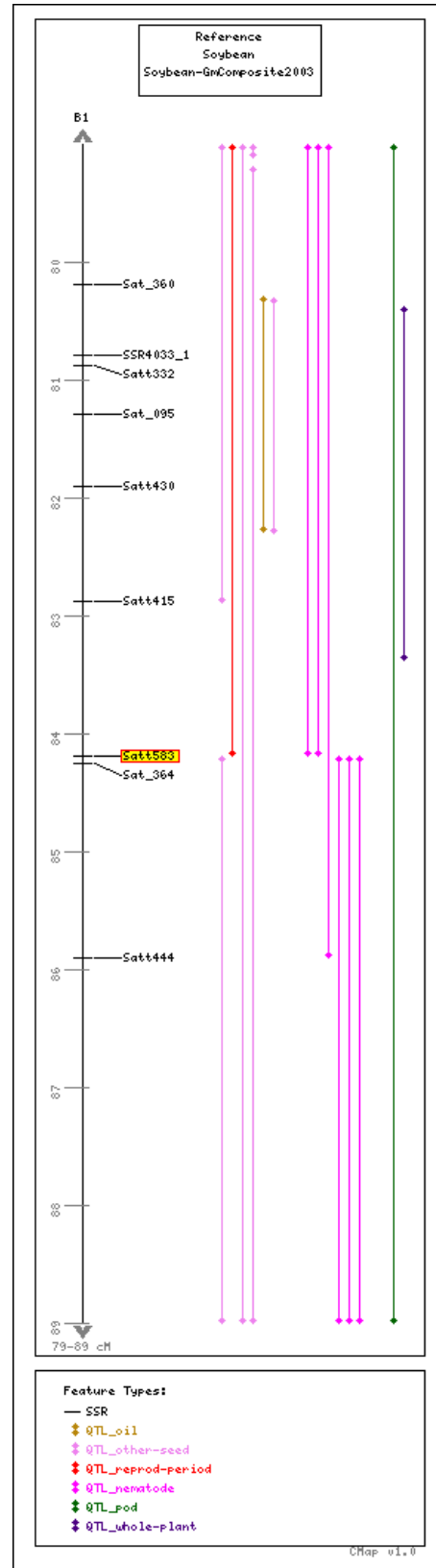




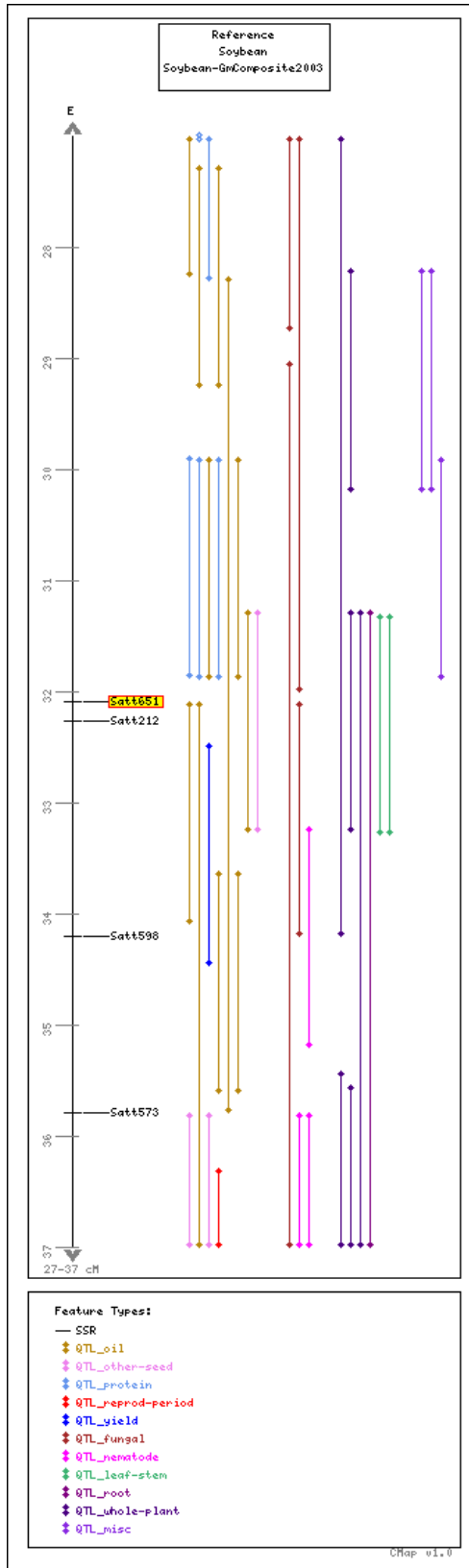
Hromozom 6 (C2) Satt557



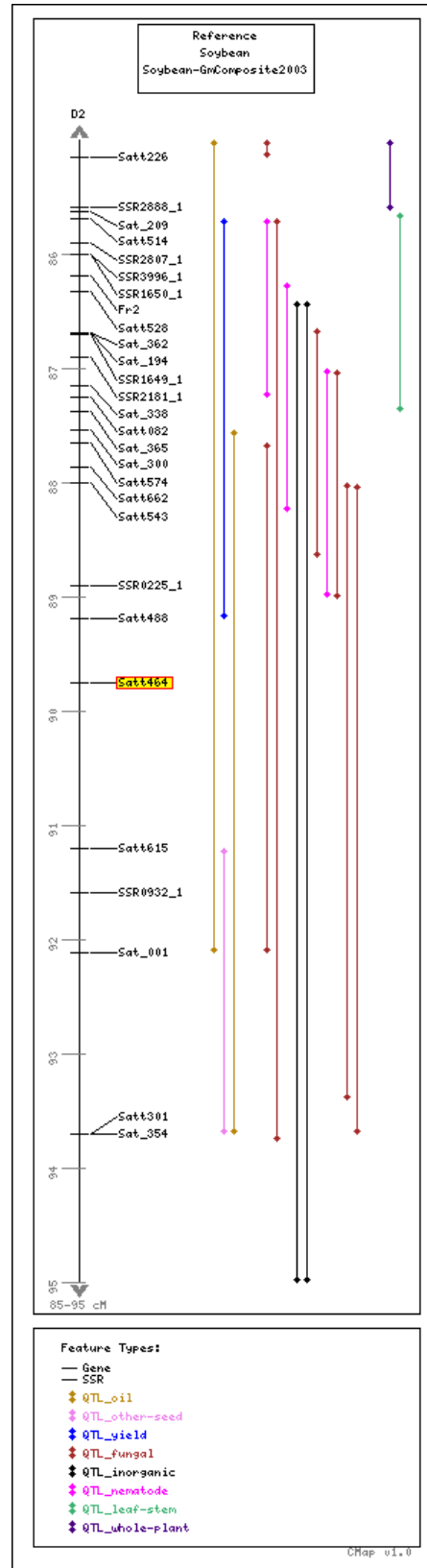
Hromozom 7 (M) Satt567-Satt435



Hromozom 11 (B1) Satt583



Hromozom 15 (E) Satt651



Hromozom 17 (D2) Satt464

BIOGRAFIJA



Marina Tomičić je rođena 8. novembra 1986. u Rumi. Završila je gimnaziju „Svetozar Marković“, opšti smer, u Novom Sadu. Prirodno-matematički fakultet u Novom Sadu (smer: diplomirani biolog-molekularni biolog) upisala je 2005. godine, a diplomirala 2009. sa prosečnom ocenom 9,39. Iste godine upisuje master studije (studijski program: diplomirani biolog – master, modul: molekularni biolog) koje završava u roku, sa prosečnom ocenom 9,38. Tokom master studija bila je dobitnik stipendije Fonda za mlade talente Ministarstva omladine i sporta Republike Srbije za najbolje studente završnih godina.

Školske godine 2010/2011 upisuje doktorske akademske studije (studijski program: doktor bioloških nauka) na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu. Od februara 2011. do aprila 2012. godine bila je stipendista Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije za studente doktorskih akademskih studija. Kao doktorant - stipendista bila je angažovana u radu grupe za Fiziologiju biljaka, Departmana za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Tokom stipendiranja je bila angažovana na projektu finansiranom od strane Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije „Biosensing tehnologije i globalni sistem za kontinuirana istraživanja i integrisano upravljanje ekosistemima“ (III 043002).

Od aprila 2012. godine zasniva radni odnos i raspoređuje se na poslove istraživača-pripravnik u Odeljenju za biotehnologiju, u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Prilikom zasnivanja radnog odnosa je uključena na pokrajinski projekat „Monitoring pojave genetički modifikovanog kukuruza u AP Vojvodini“. Od januara 2013. godina je uključena na projekat finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Interdisciplinarni pristup stvaranju novih sorti soje i unapređenje gajenja i dorade semena“ (TR 31022). Od 01.01.2014. godine učesnik je projekta u okviru programa FP7 Evropske unije “Legumes for the agriculture of tomorrow – LEGATO“ (broj projekta: 613551). Zvanje istraživač-saradnik za naučnu oblast Biotehničke nauke, užu naučnu disciplinu Genetika i oplemenjivanje, u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu, stiže 20. februara 2015. godine.

U periodu od 1. februara do 28. maja 2015. godine boravi u John Innes Centre, Norič, Velika Britanija na naučnom usavršavanju, finansiranom od strane britanske fondacije *The British Scholarship Trust*.

Marina je autor ili koautor 15 naučnih radova objavljenih u celini ili izvodu. Član je društva *Legume Society* i *Društva genetičara Srbije*.

Govori engleski i služi se ruskim jezikom.