

FENOTIPSKA VARIJABILNOST OSOBINA KLASA I GENETIČKA STRUKTURA POPULACIJE U KOLEKCIJI JARIH JEČMOVA

Aleksandra Miletić¹, Dejana Panković¹, Miroslav Zorić², Novo Pržulj³,
Gordana Šurlan Momirović⁴, Marija Jovanović¹, Bojan Radisavljević¹, Dragan Perović⁵

Izvod

Domestikacija, selekcija i moderno oplemenjivanje suzili su genetičku varijabilnost ječma, a time stvorili potrebu za ponovnim stvaranjem varijabilnosti kao baze za oplemenjivanje ove biljne vrste. U radu je tokom dve godine ispitivano 4 sorte ječma i 48 lokalnih populacija iz Banke biljnih gena Srbije. Analizirana je fenotipska varijabilnost i genetička struktura dve kvantitativne osobine klasa: dužina i širina klasa, i jedna osobina zrna: masa 1000 zrna, u populaciji sa genotipovima poznatog tipa vegetacije i oblika klasa. Prosečna dužina klasa iznosila je 4,2-10,2 cm, širina 0,65-1,27 cm, a masa 1000 zrna 27,58-51,35 g. Analiza varijanse imala je značajnu F vrednost za sve izvore variranja kod svih osobina. Analizom šesnaest SSR markera detektovano je ukupno 105 alelnih formi. Posmatrajući grupe, tip vegetacije i oblik klasa, diverzitet gena je bio najveći kod jarog (dvoredog i šestoredog) i šestoredog (jarog i ozimog) ječma. Rezultati AMOVA testa za oblik klasa su pokazali visoko značajne vrednosti za oba izvora varijacije, dok je međugrupna komponenta bila dominantna i za tip vegetacije (91,26%) i za oblik klasa (90,83%). UPGMA klaster analizom konstruisan je dendrogram kojim su 52 genotipa svrstana u tri glavne grupe i 11 podgrupa. Dobijeni rezultati su pokazali da u proučavanoj kolekciji postoji značajna varijabilnost ispitivanih osobina, koja se može koristiti u oplemenjivačkim programima ječma.

Ključne reči: lokalne populacije, osobine klasa, varijabilnost, SSR markeri, ječam

Uvod

Među strnim žitima, po zasejanoj površini u svetu, ječam zauzima drugo mesto, iza pšenice, a ispred ovasa, tritikalea i raži (<http://faostat3.fao.org>). Moderno oplemenjivanje suzilo je genetičku bazu sorti gajenog ječma, zbog čega su moderne sorte genetički bliske. Gajenje u monokulturi stvorilo je uslove za ubrzano nastajanje novih rasa patogena što je uzrokovalo veću osetljivost visokorodnih sorti prema bolestima i nepovoljnim ekološkim uslovima, i u krajnjoj liniji nemogućnost realizacije genetič-

kog potencijala za prinos. Ovo ukazuje na potrebu introgresije nove genetičke varijabilnosti, koja je neophodna za uspešno oplemenjivanje biljaka, pa i ječma. U cilju sprečavanja gubitka genetičke varijabilnosti mnoge nacionalne i međunarodne organizacije koje se bave ovom problematikom ističu potrebu prikupljanja, očuvanja i korišćenja divljih srodnika gajenih vrsta i endemskih sorti (Yong-Cui et al., 2005).

U ranijim istraživanjima pokazano je da lokalne populacije ječma poseduju visoku genetičku varijabilnost važnih agronomskih

Originalni naučni rad (Original Scientific Paper)

¹Miletić A, Panković D, Jovanović M, Radisavljević B, Univerzitet Educons, Fakultet ekološke poljoprivrede, 1208 Sremska Kamenica, Srbija

²Zorić M, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, 21000 Novi Sad, Srbija

³Pržulj N, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, i Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Istočnom Sarajevu, Bosna i Hercegovina

⁴Šurlan Momirović G, Poljoprivredni fakultet Univerzitet u Beogradu, 11080 Beograd, Srbija

⁵Perović D, Julius Kühn-Institute (JKI), Federal Research Institute for Cultivated Plants, Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, 06484-Quedlinburg, Germany

e-mail: dragan.perovic@jki.bund.de

osobina - ranostasnosti, nadzemne biomase, sadržaja proteina u zrnu, otpornosti na različite abiotičke i biotičke faktore (Perović et al., 2001, Pržulj, 2001). Silvar i sar. (2013) i Šurlan Momirović i sar. (2016) pokazali su da španska „core“ kolekcija ječma i kolekcija ječma iz Gen banke Srbije predstavljaju značajan izvor novih gena otpornosti na pepelnicu. Lokalne populacije mogu da budu produktivnije od elitnih sorti u specifičnim uslovima, kao što je ograničena primena agrotehničkih mera na malim parcelama i u sušnim brdskim regionima Španije (Yahiaoui et al., 2014). Zbog postojanja ozimih i jarih formi, ova vrsta ima izuzetno širok areal rasprostranjenja i u odnosu na ostale žitarice gaji se na većim geografskim širinama i nadmorskim visinama (Miroslavljević i sar., 2016). Tokom duge istorije gajenja u različitim ekološkim oblastima i primenom različitih agrotehničkih metoda izdiferencirao se veliki broj tipova, populacija i varijeteta ječma.

Razvoj genomskih tehnologija omogućava ispitivanje genetičke varijabilnosti na nivou DNK. Poznavanje genetičke osnove nekog genotipa omogućava izbor roditeljskih kombinacija, čije ukrštanje stvara pretpostavku za povećanje dobiti od selekcije i održavanje genetičke raznovrsnosti. Konvencionalno oplemenjivanje, koje se zasniva na odabiru genotipova prema fenotipu, koji se formira ekspresijom gena u uslovima spoljašnje sredine, sadrži brojne otežavajuće okolnosti tokom selekcije, među kojima je i uticaj negenetičkih faktora. Naime, kod konvencionalnog oplemenjivanja moguće je da se odbaci genotip koji nosi poželjan(ne) gen(e) slabog efekta, čija je ekspresija „maskirana“ uticajem negenetičkih faktora na kvantitativne osobine, koje su ujedno i najvažnije agronomске osobine. Otkrivanje molekularnog markera koji je blizu lokusa za neku osobinu i koji kosegregira sa tim genskim lokusom otvara mogućnost prevazilaženja ovih problema. Molekularni markeri se danas rutinski koriste u mnogim oplemenjivačkim programima za determinaciju genskih lokusa koji kontrolišu otpornost na bolesti, tolerantnost na abiotičke stresove i kvalitativne osobine (Langridge, 2005). Zbog multialelne prirode, specifičnosti hromozoma, visokog stepena polimorfizma, nasumične distribucije u

genomu, ekonomičnosti i dobre reproduktivnosti, mikrosatelitski markeri (poznati i kao jednostavne ponavljajuće sekvence, SSR), pokazali su se kao jedni od najpogodnijih tipova molekularnih markera za procenu genetičke raznovrsnosti kod ječma, kao i za mapiranje genoma i marker asistiranu selekciju (Pržulj i Perović, 2005; Panković, 2007; Panković et al., 2007; Šurlan-Momirović et al., 2013).

Imajući u vidu da većina genotipova korišćenih u ovom radu predstavlja lokalne populacije iz banke gena, očekuje se da poseduju značajnu genetičku varijabilnost, koja je osnovni preduslov uspešnog oplemenjivanja. Cilj ovog istraživanja bio da se utvrdi koje su odabrane populacije potencijalni izvori poželjnih gena za dužinu i širinu klasa i masu 1000 zrna.

Materijal i metode

U radu je ispitivano 48 populacija iz Banke biljnih gena Srbije i 4 sorte priznate od nadležnog ministarstva u Srbiji. Ogledi su postavljeni u dve godine (2014. i 2015.) u Gložanima (Svilajnac). Ispitivane su jare, ozime i fakultativne forme (forme koje se mogu gajiti i kao ozime i kao jare), dvoredog (22 genotipa) i šestoredog (30 genotipa) ječma (Tab. 1). U prvoj godini setva svih genotipova je obavljena 29. marta, a u drugoj godini 28. marta. Ogled je postavljen po slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja. Zrna su ručno sejana na dubinu od 2-3 cm, sa razmakom od 15 cm između redova i 9-10 cm u redu. Po genotipu zasejan je jedan red sa 8-10 zrna. Dužina i širina klasa za svaku populaciju, određena je merenjem 3 primarna klasa, a masa 1000 zrna nakon krunjenja svih klasova.

Za sve ispitivane osobine urađena je deskriptivna statistika, dvofaktorijalna analiza varijanse (ANOVA), zatim i multivarijaciona analiza varijanse (AMOVA).

U okviru molekularne analize, genomska DNK je izolovana iz listova biljaka starih 14 dana, a kvalitet i koncentracija DNK određeni su spektrofotometrijski i elektroforezom na agaroznom gelu. Nakon amplifikacije DNK fragmenata u PCR aparatu, veličina SSR alela je određena korišćenjem kapilarne elektroforeze i Genescan softvera. Set od 16 SSR markera,

Tabela 1. Ispitivane populacije ječma, i njihov tip vegetacije i oblik klasa.
 Table 1. Tested barley populations, their type of vegetation and spike form.

Genotip	Tip vegetacije	Oblik klasa	Genotip	Tip vegetacije	Oblik klasa
NS-183	ozimi	dvoredi	MBR1014	jari	šestoredi
NS-589	ozimi	dvoredi	MBR1015	jari	šestoredi
Sremac	ozimi	šestoredi	MBR1023	jari	šestoredi
Leotar	ozimi	šestoredi	MBR1024	jari	šestoredi
MBR500	jari	dvoredi	MBR1030	jari	šestoredi
MBR506	jari	dvoredi	MBR1035	fakultativni	šestoredi
MBR514	fakultativni	dvoredi	MBR1039	jari	šestoredi
MBR515	jari	dvoredi	MBR1046	jari	šestoredi
MBR526	jari	dvoredi	MBR1056	jari	šestoredi
MBR533	jari	dvoredi	MBR1058	jari	šestoredi
MBR540	fakultativni	šestoredi	MBR1092	jari	šestoredi
MBR552	jari	dvoredi	MBR1104	jari	šestoredi
MBR556	jari	dvoredi	MBR1127	jari	šestoredi
MBR560	jari	dvoredi	MBR1163	jari	dvoredi
MBR562	jari	dvoredi	MBR1170	jari	dvoredi
MBR566	jari	dvoredi	MBR1183	jari	dvoredi
MBR568	jari	dvoredi	MBR1189	jari	dvoredi
MBR569	jari	dvoredi	MBR1197	jari	dvoredi
MBR574	jari	dvoredi	MBR1209	jari	šestoredi
MBR862	jari	šestoredi	MBR1213	jari	šestoredi
MBR934	jari	šestoredi	MBR1215	jari	šestoredi
MBR941	jari	šestoredi	MBR1216	jari	šestoredi
MBR959	jari	šestoredi	MBR1218	jari	šestoredi
MBR992	jari	šestoredi	MBR1248	jari	šestoredi
MBR995	jari	šestoredi	MBR1251	jari	šestoredi
MBR1003	jari	šestoredi	MBR1253	jari	dvoredi

sa 2-3 SSR markera po hromozomu, je korišćen za utvrđivanje genetičke divergentnosti. Diverzitet mikrosatelitskih markera određen je Genetic Data Analysis (GDA) analizom (Lewis and Zaykin, 2001) u PopGene softveru (Yeh and Boyle, 1997). Ocena diverziteta gena ili bogatstvo alela određeno je pomoću FSTAT softvera (Goudet, 2002). Na osnovu udela zajedničkih alela, u Microsat softveru (Minch et al., 1997), izračunata je matrica genetičkih distanci po D_{SA} (*Shared allele distance*). Za formiranje klastera primenjen je UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) metod grupisanja. Klaster je konstruisan pomoću MEGA softvera (Tamura et al., 2007).

Tabela 2. Najmanje (Min), najveće (Max), srednje vrednosti (\bar{X}) i opseg koeficijenta varijacije (CV) za ispitivane osobine kod 52 uzorka ječma

Table 2. Minimum, maximum, average values and variation coefficient range of tested traits for 52 barley populations

Osobina	Min (cm)	Max (cm)	\bar{X} (cm)	CV (%)
Dužina klasa	4,20	10,70	7,08	5-41
Širina klasa	0,65	1,27	0,93	5-34
Masa 1000 zrna	27,58	51,35	40,86	3-75

Rezultati

Analizom dužine klasa je ustanovljeno da među genotipovima postoje značajne razlike na nivou značajnosti od 0,01 i 0,05. Najveću dužinu klasa je imao uzorak MBR568, sa srednjom vrednošću za obe godine od 10,7cm, kao i pojedinačno u 2014. i 2015.godini, a najmanju uzorak MBR1056, 4,2cm (Tab. 2). Najveću prosečnu vrednost za dužinu klasa gledano po grupama imala je grupa uzoraka dvoredog ječma (8,47cm), a najmanju grupa uzoraka šestoredog ječma (6,05cm). Uzorak MBR1058 je genotip sa najvećim koeficijentom varijacije, 41%, dok se uzorak MBR959 pokazao kao najhomogeniji za ispitivanu osobinu sa koeficijentom varijacije od 5%.

Najveću srednju vrednost za širinu klasa imala je sorta Leotar (1,27cm), dok je najmanja vrednost izmerena kod uzorka MBR1183 (0,65cm). Najveću prosečnu vrednost za širinu klasa gledano po grupama imala je grupa uzoraka ozimog ječma (1,06cm), a odmah zatim grupa uzoraka šestoredog (1,01cm). Najmanju prosečnu vrednost imala je grupa uzoraka dvoredog ječma (0,83cm). Prema vrednostima koeficijenta varijacije kao najhomogeniji izdvajaju

se uzorci MBR526 i MBR1248 (CV=5%), dok je veoma heterogen uzorak MBR1058 (CV=34%).

Srednje vrednosti mase 1000 zrna izdvojile su uzorak MBR1253 sa prosečnom masom zrna od 51,35g kao uzorak sa najkrupnijim zrnom. Najsitnije zrno imao je uzorak MBR1209 sa prosečnom masom zrna od 27,58 grama. Grupa uzoraka ozimog ječma je imala najveću prosečnu vrednost mase 1000 zrna (43,24g), za njima je i grupa uzoraka fakultativnog ječma (42,38 g). Najmanju prosečnu vrednost mase 1000 zrna imala je grupa u kojoj su bile populacije bez sorti (40,66 g). Uzorak MBR1209 je ujedno i uzorak sa najvećim koeficijentom varijacije, 75%, što ga čini izuzetno heterogenim. Sorta Leotar se ponovo izdvojila u ovom slučaju kao najstabilnija u pogledu mase 1000 zrna sa koeficijentom varijacije od 3% (Tabela 2).

Analizom varijanse za osobinu dužina klasa je ustanovljena visoko značajna F vrednost ($P < 0,01$) za izvore variranja genotip i interakcija genotip x sredina i značajnu F vrednost ($P < 0,05$) za uticaj sredine. Faktor genotip je od svih ispitivanih osobina najveći uticaj imao na dužinu klasa – 78,68% (Tab. 3).

Tabela 3. Analiza varijanse za dužinu klasa, širinu klasa i masu 1000 zrna kod 52 uzorka ječma.

Table 3. Variance analysis for spike length, spike width and 1000 grain weight for 52 barley populations.

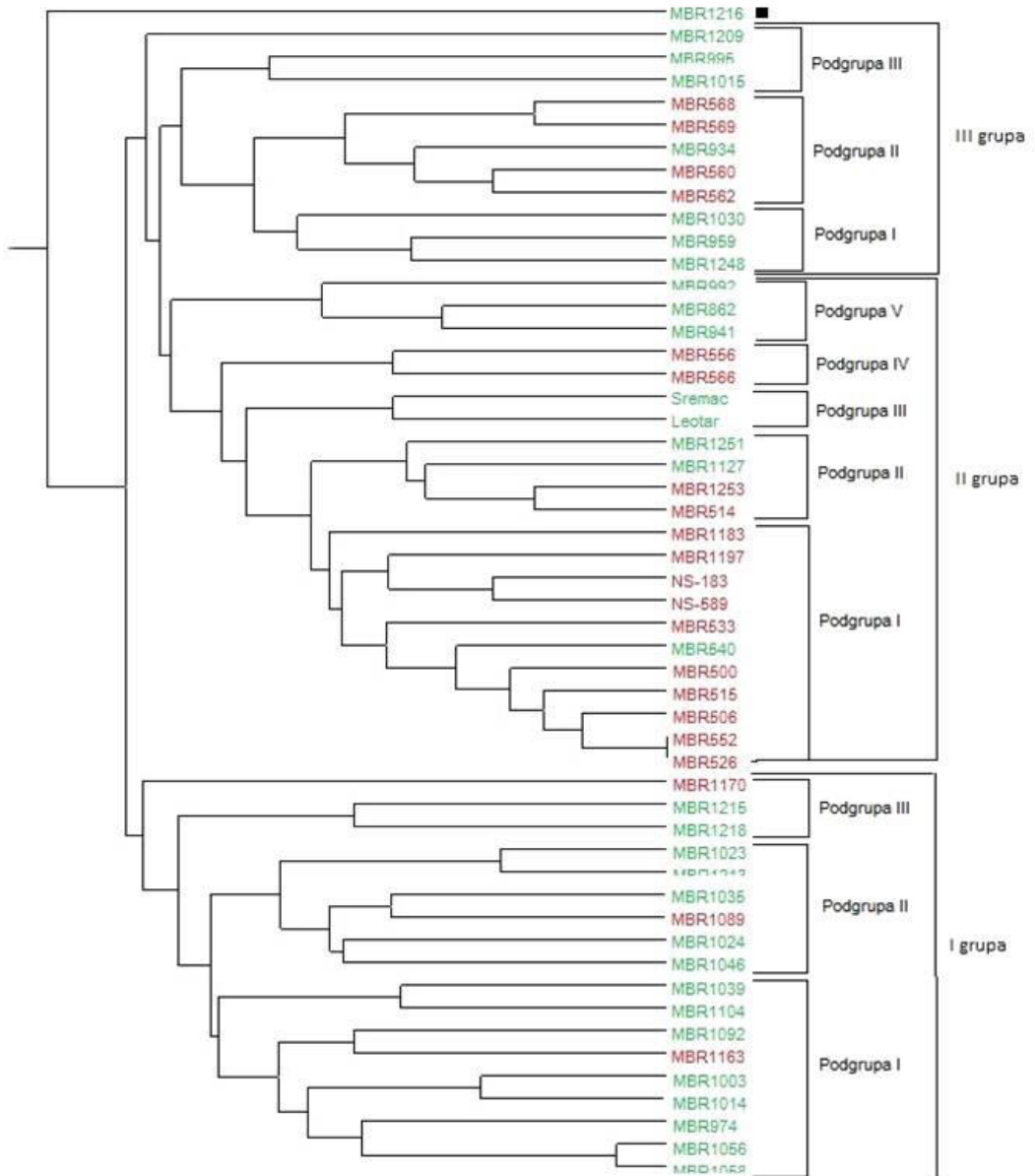
Osobina		Genotip (G)	Godina (E)	Interakcija (G x E)
Dužina klasa	F_{test}	23,35**	5,45*	6,22**
	σ^2 (%)	78,68	0,36	20,96
Širina klasa	F_{test}	13,72**	136,10**	5,37**
	σ^2 (%)	63,10	12,27	24,68
Masa 1000 zrna	F_{test}	8,67**	677,63**	5,74**
	σ^2 (%)	31,31	47,96	20,73

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

Analiza varijanse širine klasa pokazala je visoko značajnu F vrednost za sve izvore variranja, odnosno za uticaj genotipa, sredine i interakcije genotip x sredina. Od tri ispitivane osobine interakcija genotipa i spoljašnje sredine najveći uticaj je imala na širinu klasa (24,68%).

Međutim i za ovu osobinu dominantan faktor, koji je imao najviše uticaja, bio je genotip (63,1% od ukupne varijabilnosti).

Visoko značajnu F vrednost za osobinu masa 1000 zrna pokazali su izvori genotip, sredina i interakcija genotip x sredina. Masa 1000



Grafikon 1. Dendrogram 20 populacija i 2 sorte dvoredog i 28 populacija i 2 sorte šestoredog ječma na osnovu UPGMA klaster analize

Figure 1. Dendrogram for 20 landraces and 2 cultivars of two-rowed barley and 28 landraces and 2 cultivars of six-rowed barley based on UPGMA cluster analysis

zrna je u najvećoj meri bila uslovljena uticajem spoljašnje sredine sa 47,96%, a posmatrano za sve ispitivane osobine faktor sredina se pokazao kao najznačajniji upravo kod mase 1000 zrna.

Rezultati AMOVA testa za oblik klasa su pokazali visoko značajne vrednosti za oba izvora varijacije – tip vegetacije i oblik klasa ($P < 0,01$), dok je međugrupna komponenta bila dominantna i za tip vegetacije (91,26%) i za oblik klasa (90,83%).

Utvrđeno je ukupno 105 alelnih formi i svih 16 markera je imalo više od jednog alela po lokusu. Maksimalnih 18 alela detektovano je na lokusu GBM1021, a prosečan broj alela po lokusu iznosio je 6,6. PIC vrednost predstavlja meru polimorfizma lokusa, odnosno govori o snazi markera da detektuje polimorfizam u okviru populacije. U ovom slučaju PIC vrednosti su se kretale od 0,270 (GBM1043) do 0,859 (GBM1021) sa prosekom od 0,560. Frekvencije najučestalijih alela su se kretale od 0,250 (GBM1021) do 0,827 (GBM1043) sa prosekom 0,496. Divergentnost gena je bila u intervalu od 0,297 (GBM1043) do 0,870 (GBM1021), u proseku 0,617.

Najveću prosečnu vrednost broja alela po lokusu imala je grupa uzoraka jarog ječma (6,37) što je približno srednjoj vrednosti alela kod sorti šestoredog ječma (5,69). Uzorci iz grupe ozimog ječma imali su najmanju srednju vrednost alela (1,94). Takođe grupa sorti dvoredog ječma imala je manju prosečnu vrednost alela (4,50) od grupe uzoraka šestoredog. Posmatrajući grupe, tip vegetacije i oblik klasa, diverzitet gena je bio veći kod jarog (0,62) i šestoredog (0,63) nego kod ozimog (0,29) i dvoredog ječma (0,50).

Na osnovu podataka SSR markera izračunate su genetičke distance, koje su obrađene UPGMA klaster analizom i kao rezultat je dobijen dendrogram prikazan na Graf. 1. Svi ispitivani genotipovi su svrstani u tri glavne grupe, a dalje podeljeni u 11 podgrupa.

Diskusija

Dužina i širina klasa su važne morfološke osobine ječma, jer između ostalog, utiču na broj i veličinu zrna i na kraju na prinos. Iz tog razloga potrebno je utvrditi način nasleđivanja,

efekte gena i pronaći roditelje koji će biti najbolji kombinatori za ova svojstva i dati najperspektivnija potomstva. Lokalne populacije su autohtone populacije određenog regiona adaptirane na specifične lokalne uslove spoljašnje sredine (Zeven, 1998). Ove populacije se razlikuju od sorti nastalih modernim oplemenjivanjem, jer nisu prošle kroz proces intenzivne selekcije, adaptabilne su i odlikuju se varijabilnošću. Pojedine ispitivane lokalne populacije imale su više vrednosti od ispitivanih sorti kao i od sorti iz drugih radova sa kojima su upoređivane (Bratković, 2014; Amabile et al., 2017).

Rezultati dobijeni za osobinu dužina klasa su približni rezultatima drugih autora. Prosečne vrednosti dužine klasa palestinskih lokalnih populacija koje su ispitivali Shtaya et al. (2015), kretale su se od 4,93 cm kod uzorka šestoredog do 9,1 cm kod uzorka dvoredog ječma. Prema Chalaka et al. (2015), vrednosti za pomenutu osobinu libanskih populacija kretale su se u većem opsegu od ispitivanih populacija u ovom radu od 3,54 do 14,7 cm, dok su jordanske lokalne populacije ispoljile nešto niže vrednosti, od 5,5 do 8,9 cm (Al-Nashash et al., 2005). U radu Bratković (2014), gde su ispitivane 23 priznate sorte i 17 homozigotnih linija, sorte dvoredog ječma su imale prosečnu vrednost dužine klasa 8,25 cm, a sorte šestoredog 5,89 cm. Elementi klasa se formiraju još tokom bokorenja u trećoj i četvrtoj fazi organogeneze, odnosno oko 18-20 dana po nicanju kod jarog, a nakon 21-og dana kod ozimog ječma (Paunović i Madić, 2011). Formiranje vretena klasa, klasaka i cvetova u klascima zavisi od uslova koji su vladali u vreme bokorenja ječma. Analiza varijanse je pokazala da je dužina klasa prvenstveno uslovljena genetičkim potencijalom, a zatim interakcijom genotipa i uslova spoljašnje sredine, što ne isključuje i značajan uticaj uslova sredine.

U formiranju visine prinosa zrna ječma pored listova, veliki značaj imaju i drugi zeleni organi (vršna internodija i klas). Klas predstavlja vršni organ ječma koji u funkcionalnom pogledu predstavlja i izvor i akceptor asimilata (Paunović i Madić, 2011). Položaj klasa obezbeđuje efikasnije korišćenje svetlosti u odnosu na druge delove biljke. U tom smislu pored dužine, i širina klasa ima uticaj na ukupan prinos zrna preko

fotosinteze. Prema rezultatima analize kolekcije ječma sastavljene od 56 genotipova ispitivanih u 2014. godine, vrednosti za širinu klasa kretale su se u približnom opsegu od 0,47 do 1,23 cm, kao u ovim istraživanjima (Miletić, 2014).

Masa 1000 zrna je direktna komponenta prinosa zrna i menja se pod uticajem ekoloških činilaca, ali je pre svega sortna osobina. Kompleksnije je determinisana većim brojem minor gena, nego što je slučaj kod dužine i širine klasa (Perović et al., 2001). Ukazuje na krupnoću i veličinu zrna i važan je kriterijum u oplemenjivanju ječma. Prosečne vrednosti za masu 1000 zrna sorti dvoredog ječma manje su od onih koje navodi Bratković (2014), čiji je prosek za ovu grupu iznosio 50,3 g, kao i kod grupe sorti šestoredog ječma, koje kod Bratkovića (2014) iznosi 46,1 g. Ovi rezultati su i očekivani, jer je Bratković (2014) u svojim istraživanjima koristio sorte i linije, kod kojih je selekcijom povećana masa 1000 zrna. Sa druge strane, dobijena prosečna vrednost mase 1000 zrna sorti šestoredog ječma bila je veća nego vrednost koju su dobili Kumar et al. (2013), a to je 36,6 g, ali i Gupta et al. (2009) za ispitivane genotipove ječma na tri lokacije: 39,1; 38,6; 40,7 g. Masa 1000 zrna u ovom istraživanju je u najvećoj meri bila uslovljena uticajem spoljašnje sredine sa 47,96%. Posmatrano za sve ispitivane osobine faktor sredina se pokazao kao najznačajniji upravo kod mase 1000 zrna. Miroslavljević et al. (2015) su dobili drugačije rezultate, pa se u radu navodi da je faktor genotip bio dominantan (45%) po pitanju variranja, dok je faktor sredina imao najmanje uticaja na variranje (19%). Pržulj i Momčilović (2010) navode da je interakcija genotip x sredina najviše uticaja imala na variranje mase 1000 zrna kod sorti ozimog ječma.

Genetička osnova proučavanih populacija ima uticaja na stepen variranja osobina i nasleđivanje. Prosečan broj alela po SSR-u ukazuje na veći diverzitet među uzorcima ječma koji su uključeni u ispitivanje od vrednosti utvrđenih u radu Chen et al. (2012). Rezultati molekularne karakterizacije ispitivanog seta 52 uzorka ječma iz tabele 1. su objavljeni u radu Šurlan-Momirović et al. (2013). U setu od 953 uzorka ječma detektovano je prosečno 16,7 alela po markeru, a u subsetu od 565 evropskih

uzoraka nađeno je 11,3 alela po lokusu (Šurlan-Momirović et al., 2013). U našim istraživanjima grupa uzoraka šestoredog ječma imala je veći prosečan broj alela po lokusu od grupe uzoraka dvoredog ječma, što je u saglasnosti sa rezultatima Ordon et al. (2005) i Šurlan et al. (2013). Najveći broj alela po lokusu imala je grupa uzoraka jarog ječma i u tom smislu može se smatrati važnim izvorom varijabilnosti za oplemenjivanje jarog ječma u Srbiji. Prema (Badr et al., 2000) najveća varijabilnost je u gen centru porekla ječma zbog klimatskih uslova koji su vladali i vladaju u njemu, pa se za lokalne populacije iz Srbije može reći su nastale u jako raznovrsnim klimatskim uslovima.

PIC vrednosti potvrđuju da su korišćeni SSR markeri bili veoma informativni i korisni za razlikovanje polimorfne stope markera na određenom lokusu. PIC vrednosti dobijene u ovom radu su približno iste PIC vrednostima u radu Šurlan et al. (2013). Slično tome i PIC vrednost bila je veća kod grupe uzoraka šestoredog ječma nego kod grupe dvoredog. Takođe, PIC vrednosti su bile najveće kod jarog, zatim fakultativnog i na kraju kod ozimog ječma. Molekularna analiza je pokazala da među tri grupe gde su genotipovi podeljeni prema tipu vegetacije, genetički diverzitet je bio viši kod jarog ječma nego kod fakultativnog i ozimog, što može biti povezano sa adaptacijom populacija jarog ječma na širok spektar uslova spoljašnje sredine i centrom porekla. Niži nivo polimorfizma populacija ozimog ječma može se pripisati užem genetičkom diverzitetu, jer su sva 4 uzorka poreklom iz istog programa oplemenjivanja (Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbije). Rezultati multivarijacione analize varijanse su u saglasnosti sa rezultatima Šurlan et al. (2013), ukazujući na izuzetno visoke procenete međugrupne komponente variranja. Ovi rezultati međutim nisu u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili Malysheva-Otto et al. (2007), gde je međugrupna komponenta iznosila 19,48% za oblik klasa i 16,98% za tip vegetacije.

Grupisanje genotipova na dendrogramu je više u skladu sa podeljenošću uzoraka prema obliku klasa, nego prema tipu vegetacije. Da je grupisanje severnoameričkih uzoraka dvoredog i šestoredog ječma u saglasnosti sa oblikom klasa utvrdili su i Sun et al. (2011).

Zaključak

Analiza ispitivanih genotipova pokazala je da oni poseduju znatan genetički potencijal u pogledu varijabilnosti, koja je ključna osobina u svakom oplemenjivačkom programu, te da se genotipovi koji su se izdvojili mogu uključiti u neki od ovih programa. Ispitivanjem 48 lokalnih populacija i 4 sorte i njihovim poređenjem došlo se do zaključka da su neki genotipovi iz lokalnih populacija imali veće vrednosti dužine klasa i mase 1000 zrna od pojedinih komercijalnih sorti, što može biti od velike koristi u smislu njihovog unapređenja za data svojstva. Od ispitivanih genotipova posebno su se izdvojile populacije/sorte MBR568, MBR1170 sa najvećom dužinom klasa, zatim Leotar, MBR1003 i MBR1218 sa najširim klasom i MBR1253, MBR560 i MBR1197 za masu 1000 zrna. Identifikacija izvora poželjnih svojstava, uz primenu molekularnih markera će omogućiti bržu introgresiju poželjnih gena iz lokalnih populacija u komercijalne oplemenjivačke materijale, čime će se olakšati i skratiti proces stvaranja novih sorti.

Literatura

Al-Nashash A, Migdadi Saoub H, Masoud S (2005): Evaluation of Jordanian Barely (*Hordeum vulgare* L.) Landraces Collected from Diverse Environments. *Dirasat, Agricultural Sciences*, 32 (2): 163-171.

Amabile RF, Faleiro FG, Capettini F, Peixoto JR, Sayd RM (2017): Genetic variability in elite barley genotypes based on the agromorphological characteristics evaluated under irrigated system. *Ciência e Agrotecnologia*, 41 (2): 147-158

Badr A, Müller K, Schäfer-Pregl R, El Rabey H, Effgen S, Ibrahim HH, Pozzi C, Rohde W, Salamini F (2000): On the origin and domestication history of barley (*Hordeum vulgare*). *Mol. Biol. Evol.*, 17: 499–510.

Bratković K (2014): Genetička analiza prinosa dvoredog i višeredog ječma metodom multivarijacione analize. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.

Chalaka L, Mzidb R, Rizka W, Hmedeha H, Kabalanc R (2015): Performance of 50 Lebanese barley landraces (*Hordeum vulgare*

L. subsp. *vulgare*) in two locations under rainfed conditions. *Annals of Agricultural Sciences*, 60 (2): 325-334.

Chen ZW, Lu RJ, Zou L, Du ZZ, Gao RH, He T, Huang JH (2012): Genetic diversity analysis of barley landraces and cultivars in the Shanghai region of China. *Genetics and Molecular Research*, 11 (1): 644-650.

Goudet J (2002): FSTAT: A program to estimate and test gene diversities and fixation indices, Version 2.9.3.2. Institute of Ecology and Evolution, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland.

Gupta S, Upadhyay M, Shah U (2009): Agro-morphological Variability Study of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Landraces in Jumla, Nepal. *Nepal Agriculture Research Journal*, 9: 110-113.

Kumar M, Vishwakarma SR, Bhushan B, Kumar A (2013): Estimation of Genetic Parameters and Character Association in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal of Wheat Research*, 5: 76-78.

Langridge P (2005): Molecular breeding of wheat and barley. *In: Tuberosa M, Phillips RL, Gale M. Proceedings of the International Congress "In the Wake of the Double Helix: From the Green Revolution to the Gene Revolution", 27-31 May 2003, Bologna, Italy. Avenue media*, pp. 279-286.

Lewis PO, Zaykin D (2001): Genetic data analysis- Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Free program distributed by the authors.

Malysheva-Otto L, Ganal M, Law J, Reeves J, Roder M (2007): Temporal trends of genetic diversity in European barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.). *Mol. Breed.* 20: 309-322.

Miletić A (2014): Analiza fenotipske varijabilnosti dužine i širine klasa u kolekciji jarog ječma. Završni rad. Fakultet ekološke poljoprivrede, Univerzitet Educons, Sremska Kamenica.

Minch E, Ruiz-Linares A, Goldstein DB, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL (1997): MICROSAT: A computer program for calculating various statistics on Microsatellite Allele Data. Version 1.5d. Department of Genetics, Stanford University, Stanford.

- Mirosavljević M, Pržulj N, Čanak P, Momčilović V, Aćin V, Jocković B, Hristov N, Mladenov N (2015): Relationship between Grain Yield and Agronomic Traits in Winter Barley. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 52 (2): 74-79.
- Mirosavljević M, Pržulj N, Momčilović V, Hristov N (2016): NS Kosmaj i NS Maestral: New NS quality feed barley varieties. *Selekcija i semenarstvo*, Vol. 22 (1): 73-80.
- Ordon F, Ahlemeyer J, Werner K, Köhler W, Friedt W (2005): Molecular assessment of genetic diversity in winter barley and its use in breeding. *Euphytica* 146 (1-2): 21-28.
- Panković D (2007): The application of molecular markers in sunflower breeding. *Genetika*, 39 (1): 1-11.
- Panković D, Čurčić N, Jocić S, Šatović Z, Škorić D (2007): Development of Co-Dominant Amplified Polymorphic Sequence Markers for Resistance to Sunflower Downy Mildew Race 730. *Plant breeding*, 126 (4): 440-444.
- Paunović A, Madić M (2011): Ječam. *Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Čačak*.
- Perovic D, Przulj N, Milovanovic M, Prodanovic S, Perovic J, Kopahnke D, Ordon F, Graner A (2001): Characterisation of spring barley genetic resources in Yugoslavia. In *Proceedings of a symposium dedicated to the 100th birthday of Rudolf Mansfeld, Schriftenzu-GenetischenRessourcen, Band 22*: 301-306.
- Pržulj N (2001): Status of Yugoslav barley collection. *In: Knüpfner H, von Bothmer R, Ambrose M, Ellis R, Stanca AM, Enneking D, Maggioni L, Lipman E (compilers). Report of a Working Group on Barley*, pp. 46-48, 6th meeting, Salsomaggiore, Italy. *International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy*.
- Pržulj N, Momčilović V (2011): Značaj faze organogeneze na formiranje klasića u biologiji prinosa ozimog dvoredog ječma. *Ratarstvo i povrtarstvo*, 48 (2011) 37-48.
- Pržulj N, Perović D (2005): Molekularni markeri II, mikrosateliti. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo*, 41: 299-312.
- Shtaya MJY, Abdallah J, Al-Fares H, Abu-Qaoud H (2015): Detecting genetic diversity among barley landraces grown in the West-bank, Palestine in 2010-2011. *Journal of animal and plant sciences*, 25 (5): 1365-1370.
- Silvar C, Perovic D, Kopahnke D, Casas AM, Igartua E, Ordon F (2013): Contribution of serbian and spanish landraces to disease resistance in barley. *Proceedings of the international conference newenviro. New approaches for assessment and improvement of environmental status in Balkan region: interactions between organisms and environment. Sremska Kamenica Serbia*, pp. 29-35.
- Sun D, Ren G, Peng J (2011): Molecular diversity and association mapping of quantitative traits in Tibetan wild and worldwide originated barley (*Hordeum vulgare* L.) germplasm. *Euphytica*, 178: 31-43.
- Šurlan-Momirović G, Kromer I, Bratković K, Zorić M, Momirović U, Branković G, Colić I, Kandić V, Pržulj N, Ordon F, Perović D (2013): Molecular characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) accessions of the Serbian Gene bank by SSR fingerprinting. *Genetika*, 45(1): 167-180.
- Šurlan-Momirović G, Flath K, Silvar C, Branković G, Kopahnke D, Knezević D, Ordon F, Perović D (2016): Exploring the Serbian Gen Bank Barley Collection for powdery mildew resistance. *Genetic resources and crop evolution*, 63: 275-287.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, Kamura S (2007): MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24: 1596-1599.
- Zeven AC (1998): Landraces: a review of definition and classification. *Euphytica*, 104: 127-139.
- Yahiaoui S, Cuesta-Marcos A, Gracia MP, Medina B, Lasa JM, Casas AM, Ciudad F J, Montoya JL, Moralejo M, Molina-Cano JL, Igartua E (2014), Spanish barley landraces outperform modern cultivars at low-productivity sites. *Plant Breeding*, 133: 218-226.
- Yeh FC, Boyle TJB (1997): Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg. J. Bot.*, 129: 157.
- Yong-Cui H, Ze-Hong Y, Yu-Ming W, You-Liang Z (2005): Genetic diversity in barley from West China based on RAPD and ISSR analysis. *Barley Genetics Newsletter*, 35: 9-22

PHENOTYPIC VARIABILITY OF SPIKE CHARACTERISTICS AND GENETIC STRUCTURE OF POPULATION IN THE COLLECTION OF SPRING BARLEY

Aleksandra Miletić, Dejana Panković, Miroslav Zorić, Novo Pržulj, Gordana Šurlan Momirović, Marija Jovanović, Bojan Radisavljević, Dragan Perović

Summary

Domestication, selection and modern breeding narrow the genetic variability of barley, and thus create the need for re-integration of variability as a basis for barley breeding. In this study, 4 barley cultivars and 48 landraces from Serbian gene bank were analysed during two years. Phenotypic variability and genetic structure of the two quantitative spike traits: length and width, and one trait of grain: 1000 grain weight, were analyzed in a population with genotypes of known type of vegetation and spike form. Average spike length ranged from 4,2 to 10,2 cm, spike width 0,65 to 1,27 cm and 1000 grain weight from 27,58 to 51,35 g. Analysis of variance has a significant F value for all sources of variation in all traits. Analysis with 16 SSR markers detected a total of 105 allelic forms. Observing the groups of vegetation type and spike form, diversity of genes was the highest in the spring barley (two-row and six-row forms) and six-row barley (spring and winter types). The results of AMOVA test for spike form showed highly significant values for both sources of variation, while the intergroup component was dominant both for the type of vegetation (91,26 %) and form of the spike (90,83 %). Based on the cluster dendrogram 52 genotypes are classified into three main groups and 11 sub-groups. The results showed there is considerable variability of examined traits in the collection, so it can be used in barley breeding programs.

Key words: landraces, spike related traits, variability, SSR markers, barley

Primljen: 21.09.2018.

Prihvaćen: 28.11.2018.