

UNIVERZITET U BEOGRADU

POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Aleksandar S. Popović

**Procena oplemenjivačke vrednosti i molekularna
karakterizacija lokalnih populacija kukuruza
Zapadnog Balkana**

doktorska disertacija

Beograd, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF AGRICULTURE

Aleksandar S. Popovic

**Breeding value assessment and molecular
characterization of maize landraces from the
Western Balkans**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

УНИВЕРСИТЕТ В БЕЛГРАДЕ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫЙ ФАКУЛЬТЕТ

Александар С. Попович

**Оценка селекционной ценности и молекулярная
характеризация местных популяций кукурузы
Западных Балкан**

докторская диссертация

Белград, 2020 г.



UNIVERZITET U BEOGRADU

Poljoprivredni fakultet

Mentori:

Prof. dr Slaven Prodanović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

dr Vojka Babić, viši naučni saradnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje”

Članovi komisije:

dr Tomislav Živanović, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet

dr Natalija Kravić, viši naučni saradnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje”

dr Danijela Ristić, viši naučni saradnik
Institut za kukuruz „Zemun Polje”

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Zahvalnica

Zahvaljujem se naučnoj ustanovi **Institutu za kukuruz "Zemun Polje"**, koja mi je omogućila izradu doktorske disertacije i ukazala poverenje da istu realizujem.

Veliku zahvalnost dugujem mentoru **prof. dr Slavenu Prodanoviću**, za veliku ljubav koju mi je usadio prema oplemenjivanju biljaka još kao studentu osnovnih studija, čiji je trud i veliko zalaganje da nam obezbedi izvrsno znanje rezultiralo uspešnim završetkom studija; kao i na svim uputstvima, podršci i savetovanjima tokom izrade ove teze. Takođe, želim da se zahvalim i na mentorstvu **dr Vojki Babić**, za profesionalizam, pristupačnost, sugestije i znanje koje mi je nesebično prenosila tokom realizacije doktorske disertacije. Koja je svojim savetima i velikodušno izdvojenim vremenom prilikom iscrpnog pregleda rukopisa, uvek bila spremna da izađe u susret i odgovori na moja znatiželjna pitanja.

Veliku zahvalnost dugujem kolektivu Instituta za kukuruz, a posebnu zahvalnost dugujem **Grupi za banku gena**, koja mi je otvorila put naučnoistraživačkog rada u Institutu, **Odeljenju za osnovno seme**, gde sam zasnovao radni odnos i dobio podršku tokom naučnog usavršavanja. Iskazujem zahvalnost na marljivom radu kolektivu **Laboratorije za molekularnu genetiku i fiziologiju**, a posebno **dr Danijeli Ristić** koja me je uvela u tajne laboratorijskog zanata i omogućila da sagledam tematiku kojom se bavim i iz tog ugla. Takođe, zahvalan sam na pomoći prilikom izvođenja i tumačenja rezultata molekularne karakterizacije materijala, kao i na svim sugestijama oko pisanja molekularnog dela istraživanja ove disertacije. Zahvaljujem se članovima komisije **dr Nataliji Kravić** i **dr Tomislavu Živanoviću** na pažnji koju su posvetili ovom rukopisu. Na pruženoj pomoći i sugestijama prilikom odabira ispitivanog materijala zahvalan sam **dr Milomiru Filipoviću**, a oko obrade statističkih rezultata eksperimenta veliku zahvalnost dugujem **dr Milosavu Babiću**. Posebnu zahvalnost za uspešnu sardnju tokom angažovanja na projektu iskazujem **dr Jeleni Vančetović**, rukovodiocu projekta, broj: TR31028, „Genetički resursi kukuruza kao izvor poboljšanog kvaliteta zrna i tolerantnosti prema suši”, a pod pokroviteljstvom Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Ispisujući stranicu zahvalnosti, ne mogu izostaviti i kolektiv **Odeljenja za komercijalno seme** na kome trenutno radim, ali i kolege koje su mi pomogle pri eksperimentalnom radu **Ani Martić**, inž. **master Oliveri Đorđević Melnik** i inž. **master Marku Mladenoviću**.

Zahvaljujem se svima koji su tokom izrade doktorske disertacije svojim podstrekom ili na bilo koji drugi način doprineli dajući veliku i nesebičnu pomoć kako bi ovo delo bilo realizovano.

Snagu, volju i istrajnost crpeo sam iz porodice. Zato posebnu zahvalnost dugujem mojoj porodici, **ocu Slobodanu** i **majci Mirjani**, koji su mi pružili i usadili ono najbitnije, ...stpljenje kada nemam ništa i ponašanje kada imama sve. Zahvaljujem se svojoj **supruzi Jovani**, na strpljenju i razumevanju koje je pružala tokom pisanja ovog rukopisa i koja svim svojim srcem podržava moju profesionalnu karijeru. Na kraju, želim da se zahvalim i **sinu Andriji** koji je postao motiv mog postojanja.

Autor

PROCENA OPLEMENJIVAČKE VREDNOSTI I MOLEKULARNA KARAKTERIZACIJA LOKALNIH POPULACIJA KUKURUZA ZAPADNOG BALKANA

Sažetak

Zbog kontinuiranog sužavanja diverziteta germplazme koja se koristi u savremenim programima oplemenjivanja kukuruza, kako bi se ostvario željeni, kontinuirani napredak u selekciji, neophodno je vršiti introgresiju nove germplazme u postojeće heterotične grupe. Bogatstvo genetičkog diverziteta lokalnih populacija kukuruza, koje se čuva u bankama biljnih gena, predstavlja vredan izvor poželjnih svojstava. Značajna količina diverziteta, posebno kod stranooplođnih vrsta kao što je kukuruz (*Zea mays* L.), često je raspoređena i između i unutar srodnih grupa uzoraka. Kako bi se pravilno odabrao materijal iz gen banke potrebno je pre upotrebe/izbora najboljih uzoraka za programe introgresije u oplemenjivačke programe, sprovesti višefazne procese ispitivanja i odabira (stratifikacijski proces odabira). Na taj način se obuhvata široka varijabilnost s jedne strane, a sa druge, materijal dovodi do nivoa da se može uvesti u komercijalne programe oplemenjivanja. Takav koncept odabira materijala primenjen je u pripreмноj fazi ove disertacije.

Cilj ove doktorske disertacije je bio da se proceni heterotični potencijal odabranih lokalnih populacija (31) kroz njihove performanse u *test cross* ukrštanjima sa tri divergentna elitna testera L217, L73B013 i L255/75-5. Odabrani testeri pripadaju opozitnim heterotičnim grupama *Iowa Dent* (L217), *BSSS* × *Iowa Dent* (L73B013) i *Lancaster* (L225/75-5), a u laboratorijska istraživanja uključena su, kao standardi za ultra rani materijal i dva dodatna testera (F2 i Polj17). Takođe je urađena molekularna karakterizacija primenom SSR markera, kako bi se uporedili podaci dobijeni u polju i laboratoriji, i zajedno doprineli proceni oplemenjivačke vrednosti ispitivanog materijala. Nakon ukrštanja populacija (31) i testera (3), dobijena 93 *test cross* hibrida testirana su u uslovima suvog ratarenja, na četiri lokacije (Zemun Polje, Pančevo, Sremska Mitrovica i Bečej), tokom dve godine, u dva ponavljanja, sa četiri bloka unutar svakog ponavljanja. Ukrštanjem testera međusobno (L217 × L255/75-5; L73B013 × L255/75-5; L255/75-5 × L73B013), proizvedeni su dvolinijski F1 hibridi, koji su korišćeni kao standardi u poljskim ogledima sa *test cross* hibridima. Površina elementarne parcele iznosila je 7,5m², pri čemu je svaki hibrid posejan u dva reda.

Analiza varijanse je pokazala da su za sve ispitivane osobine izvori variranja (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije i njihove interakcije) bili statistički značajni u najvećem broju slučajeva, izuzev trostuke interakcije (spoljašnja sredina × otac × majka). Preko efekta majke (lokalne populacije) identifikovani su najbolji opšti kombinatori, pre svega za prinos zrna, ali i za ostale ispitivane morfološke osobine (18) od značaja za oplemenjivanje kukuruza. Lokalne populacije MB1267, MB1346, MB197, MB1569, MB1509 i MB2036 izrazile su najbolje opšte kombinacione sposobnosti (OKS) za prinos zrna. Pokazalo se da su se lokalne populacije tipa zubana uglavnom najbolje kombinovale za prinos zrna. Statistički značajne korelacije prinosa zrna lokalnih populacija *per se* i prosečne performanse lokalnih populacija u ukrštanju sa inbred testerima, ukazale su da je aditivni efekat gena prevalentni faktor za determinisanje opšte kombinacione sposobnosti (OKS) za prinos zrna. Utvrđene su daleko izraženije korelacije za visinu biljke, visinu klipa, odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, dužinu lista, širinu lista, broj listova iznad klipa, dužinu klipa, prečnik klipa, prečnik oklaska, dubinu zrna, broj redova zrna, broj zrna u redu i masu 1000 semena, između populacija *per se* i efekata populacija u *test cross* hibridima. Procenjena je i posebna kombinaciona sposobnost (PKS) za prinos zrna kao najznačajnije svojstvo. Istaknute su perspektivne *test cross* kombinacije koje prevazilaze referentnu vrednost od 75% prinosa F1 hibrida (standarda). Lokalne populacije MB1960, MB642, MB2006, MB1945, MB1346, MB1569, MB1450, MB1534, MB1509 i MB1665 pokazale su se dobro u ukrštanju sa testerom L217, dok su populacije MB1960, MB773, MB1798, MB1665, MB632, MB877 i MB1569 dale najbolje rezultate u ukrštanju sa inbred testerom L73B013. U ukrštanjima sa inbred testerom L255/75-5, najveći heterotični efekat ispoljile su populacije MB467, MB773, MB1346, MB1534, MB2249 i MB288. Posebnu pažnju treba posvetiti lokalnim populacijama

MB1346, MB1569 i MB1509, koje istovremeno imaju visoku OKS i PKS. Određen broj lokalnih populacija ispoljio je heterozis sa dva inbred testera, što ukazuje na postojanje novog, nezavisnog heterotičnog izvora unutar ispitivane germplazme.

Kada se posmatra efekat samih testera, uočeno je da je najveći prinos postignut ukrštanjem populacija sa testerom L73B013. Efekat testera L217 nije se statistički razlikovao, dok je značajno niži prosečni prinos *test cross* hibrida postignut u ukrštanjima sa testerom L255/75-5, *Lancaster* heterotične osnove. Ovi rezultati ukazuju na veću srodnost lokalne germplazme sa ovom heterotičnom grupom.

Molekularna karakterizacija 31 lokalne populacije i 5 testera (36 genotipova) je izvršena primenom 29 polimorfnih SSR (*Simple Sequence Repeat*) markera, kako bi se ispitala njihova genetička sličnost i divergentnost, i to kako između populacija međusobno, tako i u odnosu na testere. Rezultati molekularne analize prikazani su na dendrogramu i grafikonima korespodentne analize. Lokalne populacije su se na dendrogramu klaster analize grupisale u četiri jasno odvojene grupe i jednu granu. Odnosno, utvrđeno je da se populacija MB1509 na osnovu svoje genetičke distance značajno razlikuje od svih ostalih populacija, ali i korišćenih testera. Korespodentna analiza je prikazala svu kompleksnost njihovih međusobnih odnosa na grafikonima u dvodimenzionalnom i trodimenzionalnom prostoru. Na osnovu molekularne analize korišćeni testeri su se grupisali u skladu sa poznatim informacijama o njihovom pedigreu. Može se zaključiti da su rezultati o fenotipskim vrednostima *test cross* hibrida iz poljskih ogleda s jedne strane, i dobijeni rezultati koeficijenata genetičke sličnosti/divergentnosti (molekularne karakterizacije roditeljskih genotipova) s druge, dobrim delom u saglasnosti, što ne znači da jedan pristup isključuje drugi. Naprotiv, jedino integrisanjem rezultata koji su dobijeni iz poljskih ogleda i molekularnih analiza može se dobiti pouzdana procena vrednosti ispitivanih lokalnih populacija kukuruza Zapadnog Balkana za introgresiju u komercijalni oplemenjivački program.

Ključne reči: *genetička divergentnost, kukuruz, lokalne populacije, banka gena, heterotične grupe*

Naučna oblast: BIOTEHNIČKE NAUKE

Uža naučna oblast: RATARSTVO I POVRTARSTVO – GENETIKA

UDK broj: 631.52+577.21]:633.15(497)(043.3)

BREEDING VALUE ASSESSMENT AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF MAIZE LANDRACES FROM THE WESTERN BALKANS

Abstract

Due to the permanent narrowing of the germplasm diversity used in contemporary maize breeding programmes, in order to achieve continuous progress in selection, it is necessary to introgress a new germplasm into existing heterotic groups. The wealth of genetic diversity of maize landraces conserved in gene banks is a valuable source of desirable traits. A huge diversity, especially in cross-pollinated species such as maize (*Zea mays* L.), is often distributed both between and within related groups of accessions. With the intention of a proper selection of a gene bank material, it is necessary to perform evaluation and selection based on stratification selection process, prior to the use of the best of the accessions for their introgression into breeding programmes. In such a way, wide variability is encompassed, allowing the material to be introduced into the commercial breeding programmes. Such a concept of the gene bank material selection was applied in the initial phase of this dissertation.

The aim of this PhD thesis was to assess the heterotic potential of selected landraces (31) via their performance in test-crossings to three divergent elite testers L217, L73B013 and L255/75-5. The selected testers belong to the opposite heterotic groups Iowa Dent (L217), BSSS × Iowa Dent (L73B013) and Lancaster (L225/75-5), respectively. Except for them, two additional testers (F2 and Polj17) were used in laboratory tests as checks for the ultra early maturing material. Furthermore, molecular characterization was performed by using SSR markers, in order to compare data obtained in the field and in the laboratory, jointly contributing to the assessment of the breeding value of the tested material. A total of 93 test cross hybrids were developed from the crosses of landraces (31) and testers (3). These hybrids were tested under rain-fed conditions, at four locations (Zemun Polje, Pančevo, Sremska Mitrovica and Bečej), during two-year trial, in two replications and four blocks within each replication. The tester to tester crosses (L217 × L255/75-5; L73B013 × L255/75-5; L255/75-5 × L73B013) resulted in single cross F1 hybrids used as checks in evaluation of test cross hybrids performances in field trials. The elementary plot size amounted to 7.5 m², whereby each hybrid had been sown in two rows.

Analysis of variance showed that for all examined traits, the sources of variation (environment, effects of male-tester, effects of female-population and their interactions) were statistically significant in most cases except for triple interaction (environment × male × female). Effects of female component (landraces) were used to identify populations with the highest general combining ability (GCA) effect, for the grain yield primarily, but also for the rest of observed morphological traits (18) of importance for maize breeding. Landraces MB1267, MB1346, MB197, MB1569, MB1509 and MB2036 expressed the highest GCA effects for the grain yield. Dent landraces showed the highest GCA effects for the grain yield. Statistically significant correlations of the grain yield of landraces *per se* and the average performance of landraces in crosses to inbred testers indicated that the additive gene effect was a prevalent factor for determining GCA for the grain yield. Far more pronounced correlations were established for the following traits: plant height, ear height, the ratio of plant height to the upper ear to the plant height to the tassel tip, leaf length, leaf width, number of leaves above the ear, ear length, ear diameter, cob diameter, kernel depth, number of kernel rows, number of kernels per row and 1000-kernel weight. Special combining ability (SCA) was estimated for the grain yield, as the most important trait. The best yielding test cross combination that exceeded the reference value of 75% of yields of F1 hybrids (checks) were emphasized. Landraces MB1960, MB642, MB2006, MB1945, MB1346, MB1569, MB1450, MB1534, MB1509 and MB1665 performed well in the cross to the tester L217, whereas landraces MB1960, MB773, MB1798, MB1665, MB632, MB877 and MB1569 showed the best results in the cross to the inbred tester L73B013. The landraces MB467, MB773, MB1346, MB1534, MB2249 and MB288 expressed the highest heterotic effect in crosses to the inbred tester L255/75-5. Special attention should be paid to the landraces MB1346, MB1569 and MB1509, since they exhibited both

high GCA and SCA. A certain number of landraces expressed heterosis with two inbred testers, pointing out to the existence of a new, unrelated heterotic source within the observed germplasm.

The insight of effects of testers showed that the highest yield was achieved by the crosses of landraces to the tester L73B013. The effect of the tester L217 was not statistically different, while a significantly lower average yield of the test cross hybrid was obtained in crosses to the tester L255/75-5 of a Lancaster heterotic pattern. These results indicate to a greater relatedness of local germplasm with this heterotic group.

Molecular characterisation of 31 landraces and five testers (36 genotypes) was performed using 29 polymorphic SSR (*Simple Sequence Repeat*) markers, in order to test their genetic similarity and divergence, both among populations and in relation to testers. The results of molecular analyses are presented in the cluster dendrogram and the correspondence analysis chart. Landraces were grouped into four clearly separated clusters and one branch. Namely, it was established that according to its genetic distance the landrace MB1509 significantly differed from remaining landraces but also from used testers. The correspondence analysis showed the complexity of their interrelations on charts in the two- and three-dimensional space. Based on the molecular analyses, used testers were grouped according to the known information about their pedigree. It can be concluded that results on the phenotypic values of test cross hybrids obtained in field trials, and results gained by the coefficient of genetic similarity/divergence (molecular characterisation of parental genotypes), are congruent to a great extent, which does not mean that one approach excludes the other. Moreover, it could be concluded that reliable assessment of observed Western Balkans maize landraces for their introgression into commercial breeding programmes could be obtained, to a higher extent, by integrating the results obtained in the field trials and results gained by the molecular analyses.

Key words: *genetic divergence, maize, landraces, genebank, heterotic groups*

Scientific field: BIOTECHNICAL SCIENCES

Scientific subfield: FIELD AND VEGETABLE CROPS – GENETICS

UDK number: 631.52+577.21]:633.15(497)(043.3)

ОЦЕНКА СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ МЕСТНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ КУКУРУЗЫ ЗАПАДНЫХ БАЛКАН

Резюме

Из-за постоянного сужения разнообразия зародышевой плазмы, используемой в современных программах селекции кукурузы, для достижения желаемого постоянного прогресса в селекции необходимо интрогрессировать новую зародышевую плазму в существующие гетерозисные группы. Богатство генетического разнообразия местных популяций кукурузы, хранящихся в генных банках, является ценным источником желаемых качеств. Огромное разнообразие, особенно у перекрестноопыляемых видов, таких как кукуруза (*Zea mays* L.), часто распределяется как между, так и внутри связанных групп сортообразцов. С целью правильного выбора материала генного банка необходимо выполнить многофазный процесс оценки и отбора (стратифицированный процесс отбора), прежде чем использовать/выбрать лучшие образцы для программ интрогрессии в селекционные программы. Таким образом достигается широкая вариабельность, вследствие чего материал достигает такого уровня, что может быть введен в коммерческие программы селекции. Такая концепция отбора материала была применена на начальном этапе данной диссертации.

Целью диссертации было оценить гетерозисный потенциал определенных местных популяций (31) по их эффективности в тестовых перекрестных скрещиваниях с тремя дивергентными элитными тестерами L217, L73B013 и L255/75-5. Выбранные тестеры принадлежат к противоположным гетерозисным группам Айова Дент (*Iowa Dent*) (L217), BSSS × Айова Дент (L73B013) и Ланкастер (*Lancaster*) (L225/75-5) соответственно, а кроме них, два дополнительных тестера (F2 и Polj17) использовались в лабораторных испытаниях в качестве проверок для материала с очень ранним сроком созревания. Также была выполнена молекулярная характеристика с использованием маркеров SSR, чтобы сравнить данные, полученные в полевых условиях и в лаборатории, и чтобы они совместно внесли вклад в оценку селекционной ценности тестируемого материала. Всего было получено 93 гибрида с тестовым скрещиванием из скрещивания местных популяций (31) и тестеров (3). Эти гибриды были испытаны в условиях богарного земледелия в четырех местах (Земун Поле, Панчево, Сремска Митровица и Бечей), в течение двух лет, два раза, каждый раз испытание включало в себя четыре блока. Скрещиванием тестеров между собой (L217 × L255/75-5; L73B013 × L255/75-5; L255/75-5 × L73B013) были получены гибриды F1 с двумя линиями, которые использовались в качестве стандартов в полевых испытаниях с использованием гибридов с тестовым скрещиванием. Площадь элементарного участка составила 7,5 м², при этом каждый гибрид высевали в два ряда.

Анализ разновидностей показал, что для всех исследованных признаков источники вариации (внешняя среда, эффект отца-тестера, эффект матери-популяции и их взаимодействия) были статистически значимыми в большинстве случаев, за исключением тройного взаимодействия (внешняя среда × отец × мать). С помощью материнского эффекта (местных популяций) были выявлены лучшие общие комбинаторы, в первую очередь для урожайности зерна, а также для остальных испытываемых морфологических признаков (18), важных для селекции кукурузы. Местные популяции MB1267, MB1346, MB197, MB1569, MB1509 и MB2036 показали наилучшую общую комбинационную способность (ОКС) для урожайности зерна. Было показано, что местные популяции типа кукурузы зубовидной, как правило, лучше всего сочетаются по урожайности зерна. Статистически значимые корреляции урожайности зерна у местных популяций как таковых и средней производительности местных популяций при скрещивании с инбредными линиями показали, что аддитивное действие генов было преобладающим фактором для определения ОКС для урожайности зерна. Гораздо более выраженные корреляции были установлены для следующих признаков: высота растения, высота початка, отношение высоты растения до

верхнего початка и высоты растения до кончика метелки, длина листа, ширина листа, количество листьев над початком, длина початка, диаметр початка, диаметр стержня, глубина зерна, количество рядов зерна, количество зерен в ряду и масса 1000 зерен. Специфическая комбинационная способность (СКС) была оценена для урожайности зерна, как наиболее важной характеристики. Подчеркнуты перспективные комбинации тестового скрещивания, которые превышают контрольное значение в 75% урожая гибридов F1 (стандарт). Местные популяции MB1960, MB642, MB2006, MB1945, MB1346, MB1569, MB1450, MB1534, MB1509 и MB1665 показали хорошие результаты в скрещивании с линией L217, в то время как популяции MB1960, MB773, MB1798, MB1665, MB632, MB877 и MB1569 показали наилучшие результаты в скрещивании с инбредной линией L73B013. Популяции MB467, MB773, MB1346, MB1534, MB2249 и MB288 показали наибольший гетерозисный эффект при скрещивании с инбредной линией L255/75-5. Особое внимание следует уделить местным популяциям MB1346, MB1569 и MB1509, поскольку они демонстрируют как высокий ОКС, так и высокий СКС. Определенное число местных популяций показало гетерозис с двумя инбредными линиями, что указывает на существование нового, независимого гетерозисного источника в испытываемой зародышевой плазме.

При наблюдении за эффектом самих тестеров, было замечено, что самая высокая урожайность была достигнута при скрещивании местных популяций с тестером L73B013. Эффект тестера L217 не был статистически разным, в то время как значительно меньшая средняя урожайность гибрида с тестовым скрещиванием была получена при скрещивании с тестером L255/75-5 гетерозисной основы Ланкастер (*Lancaster*). Эти результаты указывают на большее родство местной зародышевой плазмы с этой гетерозисной группой.

Молекулярную характеристику 31 местной популяции и пяти тестеров (36 генотипов) проводили с использованием 29 полиморфных маркеров SSR (*Simple Sequence Repeat*), чтобы проверить их генетическое сходство и расхождение как среди самой популяции, так и по отношению к тестерам. Результаты молекулярного анализа представлены в дендрограмме кластерного анализа и графиках анализа соответствия. Местные популяции на дендрограмме кластерного анализа были разделены на четыре ярко выраженные группы и одну ветвь. А именно, было установлено, что по своей генетической дистанции популяция MB1509 значительно отличалась от всех остальных популяций, как и от использованных тестеров. Анализ соответствия показал сложность их взаимосвязей на графиках в двух- и трехмерном пространстве. На основании молекулярного анализа использованные тестеры были сгруппированы в соответствии с известной информацией об их родословной. Можно сделать вывод, что результаты по фенотипическим значениям гибридов с тестовым скрещиванием, полученные в полевых испытаниях, и результаты коэффициентов генетического сходства/различия (молекулярной характеристики родительских генотипов) в значительной степени совпадают, что не означает, что один подход исключает другой. Напротив, только путем интеграции результатов, полученных в полевых испытаниях и молекулярных анализах, можно получить достоверную оценку ценности изучаемых местных популяций кукурузы Западных Балкан для интродукции в коммерческие программы селекции.

Ключевые слова: *генетическая дивергенция, кукуруза, местные популяции, генный банк, гетерозисные группы*

Научная область: БИОТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Научное подразделение: РАСТЕНИЕВОДСТВО И ОВОЩЕВОДСТВО - ГЕНЕТИКА

Номер УДК: 631.52+577.21]:633.15(497)(043.3)

SADRŽAJ

I UVOD	1
II CILJ ISTRAŽIVANJA	3
III PREGLED LITERATURE	5
3.1. Upotreba i privredni značaj kukuruza	5
3.2. Fundamentalne činjenice o kukuruзу	6
3.3. Čuvanje genetičke varijabilnosti	11
3.4. Pred oplemenjivanje – koncept efikasnog korišćenja genetičkih resursa	12
3.5. Različiti pristupi u proučavanju germplazme kukuruza	15
3.6. Heterozis – fenomen povećanja prinosa	18
IV RADNA HIPOTEZA	23
V MATERIJAL I METODE	25
5.1. Biljni materijal	25
5.1.1. Odabir ispitivanog biljnog materijala	25
5.1.2. Ukrštanje materijala i stvaranje <i>test cross</i> hibrida	30
5.2. Parametri poljskih ogleda <i>test cross</i> hibrida	31
5.2.1. Agrotehnički uslovi i primenjene mere na ispitivanim lokalitetima	33
5.2.2. Agrometeorološki uslovi	34
5.2.2.1. Agrometeorološki uslovi tokom 2015. godine	34
5.2.2.2. Agrometeorološki uslovi tokom 2016. godine	35
5.3. Merenje morfoloških osobina <i>test cross</i> hibrida i prinos zrna	37
5.3.1. Kvantitativna svojstva	37
5.3.2. Kvalitativna svojstva	39
5.4. Molekularna karakterizacija roditeljskih komponenata <i>test cross</i> hibrida (lokalnih populacija i testera)	42
5.4.1. Izolacija DNK molekula	42
5.4.2. Određivanje koncentracije DNK molekula	42
5.4.3. Provera kvaliteta DNK molekula	43
5.4.4. Amplifikacija DNK – PCR metod	43
5.4.5. Poliakrilamidna elektroforeza (A-PAGE)	43
5.4.6. Odabir genetičkih mikrosatelitskih prajmera kukuruza	43
5.5. Statističke analize	45
5.5.1. Statistički metodi za analizu podataka fenotipskih osobina	45
5.5.2. Statistički metodi za analizu podataka dobijenih molekularnim markerima	47
VI REZULTATI ISTRAŽIVANJA	49
6.1. Rezultati analize varijanse (ANOVA) kvantitativnih osobina <i>test cross</i> hibrida	49
6.1.1. Visina biljke	49
6.1.2. Visina klipa	52

6.1.3. Odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice	55
6.1.4. Dužina lista.....	58
6.1.5. Širina lista.....	61
6.1.6. Broj listova iznad klipa.....	64
6.1.7. Dužina klipa	67
6.1.8. Prečnik klipa.....	70
6.1.9. Prečnik oklaska.....	73
6.1.10. Dubina zrna	76
6.1.11. Broj redova zrna	79
6.1.12. Broj zrna u redu.....	82
6.1.13. Masa 1000 semena	85
6.1.14. Prinos zrna.....	88
6.2. Rezultati analize kvalitativnih (deskriptivnih) osobina <i>test cross</i> hibrida	94
6.2.1. Boja vrha zrna	94
6.2.2. Tip zrna.....	97
6.2.3. Oblik klipa.....	100
6.2.4. Intenzitet antocijanskog obojenja plevica oklaska (boja oklaska)	103
6.2.5. Pravost redova zrna na klipu	106
6.3. Rezultati analize SSR markera.....	110
6.4. Rezultati klaster analize	113
6.5. Rezultati korespondentne analize.....	114
VII DISKUSIJA REZULTATA	117
7.1. Analiza kvantitativnih osobina.....	118
7.2. Analiza molekularnih markera.....	125
7.3. Analiza kvalitativnih osobina.....	128
VIII ZAKLJUČAK.....	131
IX LITERATURA.....	133



I

UVOD

Kukuruz (*Zea mays* L.) predstavlja pored pšenice i pirinča najznačajniju ratarsku biljnu vrstu. Značaj kukuruza ogleda se u činjenicama da je izrazito polimorfna vrsta visoke genetičke varijabilnosti, širokog areala gajenja, po zasejanim površinama zauzima treće, po proizvedenim količinama drugo, a po prinosu zrna po jedinici površine prvo mesto u svetu. Preko 80% trgovačkih artikala koje u prodavnicama prepoznajemo i svakodnevno konzumiramo kao raznoliku robu, u sebi sadrži kukuruz ili neki proizvod od kukuruza. Zbog značaja koji poseduje kukuruz je predmet istraživanja brojnih naučnika različitih disciplina.

Nakon Drugog svetskog rata, uvođenjem hibridnih sorti u poljoprivrednu proizvodnju kukuruza, postepeno je potisnuto gajenje slobodno oprašujućih populacija sa jednim i osnovnim ciljem – povećanje prinosa zrna. Posmatrajući sa ove vremenske distance, evidentan je ogroman napredak u pravcu stvaranja hibrida visokog prinosa, ali i visoke plastičnosti, odnosno stabilnosti prinosa. Takođe je postignut veliki napredak u stvaranju samooplodnih linija dobrih osobina *per se* i dobrih kombinatora. Međutim, konstantna težnja za sve većim prinosom zanemarivala je i sužavala genetički diverzitet, tako da je u proizvodnji na velikim površinama zastupljen vrlo mali broj hibrida nastalih iz elitnih materijala slične (uske) genetičke osnove. Kako bi se ostvario željeni, kontinuirani napredak od selekcije, neophodno je ulagati određene napore u pravcu introgresije nove germplazme u već dugo korišćene heterotične grupe. Bogatstvo genetičkog diverziteta koje se čuva u bankama biljnih gena predstavlja nepresušan izvor poželjnih svojstava. Međutim, materijal iz banaka gena se generalno veoma malo koristi u komercijalnim oplemenjivačkim programima i brojni su objektivni razlozi za to: nedostatak dokumentacije, neodgovarajući opis uzoraka, nedovoljno informacija važnih za oplemenjivanje, mala količina semena, neadaptiranost uzoraka odgovarajućim uslovima, kao i opterećenost brojnim nepoželjnim osobinama sa aspekta moderne agrotehnike. Unapređenje ovakvog materijala zahteva skupe, dugoročne programe. Stoga se izuzetan značaj daje posebno koncipiranim predoplemenjivačkim programima koji bi trebalo da omoguće prevazilaženje postojećeg jaza između banaka gena i komercijalnih selekcionih programa. Dakle, predoplemenjivanje predstavlja aktivnosti i programe koje se odnose na pronalaženje i identifikaciju poželjnih svojstava (gena) u okviru neadaptiranog materijala kao i programe njihovog unapređenja do nivoa prihvatljivosti za komercijalne programe. Lokalne populacije sakupljene na prostoru bivše Jugoslavije, koje se čuvaju u banci gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje” predstavljaju atraktivne izvore genetičke raznovrsnosti za potrebe predoplemenjivanja. One su uzgajane tokom prethodnih vekova na prostoru Zapadnog Balkana (koji pripada evropskom kukuruznom pojasu), te oblikovane na osnovu specifičnog i raznorodnog agroklimata ovog područja, pa se stoga smatraju vrednim materijalom za obogaćivanje oplemenjivačkih kolekcija umerenog klimata.

Rad na ovakvom materijalu zahteva više stratifikacijskih procesa odabiranja kako bi se došlo do nivoa kada se takav materijal može inkorporirati u komercijalni program oplemenjivanja. U okviru projekta Instituta „Identifikacija izvora tolerantnosti prema suši u gen banci kukuruza” (projektni period 2008-2010), u kontrolisanim uslovima vodnog deficita u Egiptu, urađena je procena 5806 genotipova iz banke gena na tolerantnost prema suši. Tada je izdvojeno 558 genotipova od kojih je 321 lokalna populacija Zapadnog Balkana kao mogući izvori tolerantnosti. Deo predoplemenjivačkih aktivnosti je dalje bio usmeren na lokalne populacije. Na osnovu

morfološke analize po *CIMMYT/IPBGR* deskriptoru, lokalne populacije (310) su klasifikovane u 11 divergentnih grupa (Babić et al., 2015).

Drugi značajan korak, u stratifikacijskom odabiru manjeg broja populacija za dalji rad na ispitivanju njihovog heterotičnog potencijala, predstavljala je preliminarna evaluacija 310 lokalnih populacija kukuruza na osobine koje su značajne oplemenjivačima: male vrednosti *ASI*-ja (*antes isyliking interval*), nisko pozicioniran klip, dobar prinos *per se*, tamno zelena boja listova, mali broj poplegih i slomljenih biljaka, dobra ocena kvaliteta klipa itd., a koje nisu bile obuhvaćene karakterizacijom po *CIMMYT/IPBGR* deskriptoru (Popović, 2013). U skladu sa zadatim ciljevima u ovom koraku odabrano je ukupno 40 najboljih populacija *per se* obuhvativši ravnomerno (10-15%) svih 11 divergentnih grupa.

Ova doktorska disertacija predstavlja rezultate rada ispitivanja heterotičnog potencijala odabranih 40 lokalnih populacija Zapadnog Balkana u ukrštanjima sa tri divergentna testera. Pored toga, utvrđene su genetičke distance datih lokalnih populacija kao i odabranih testera, tj. njihova povezanost, sličnost ili udaljenost na molekularnom nivou, primenom SSR markera. Dobijene su veoma korisne informacije koje će biti korišćene u procesu introgresije poželjnih alela, sadržanih u ispitivanim populacijama, u elitnu germplazmu oplemenjivačkog programa Instituta za kukuruz „Zemun Polje”.

II

CILJ ISTRAŽIVANJA

Osnovni ciljevi ove doktorske disertacije su:

- da se na osnovu test ukrštanja oceni opšta kombinaciona sposobnost (OKS) odabranih lokalnih populacija kukuruza za sve ispitivane osobine, a time identifikuju populacije koje su najbolji opšti kombinatori, pre svega za prinos zrna, a onda i za ostale osobine od značaja za oplemenjivanje kukuruza;
- da se identifikuju lokalne populacije koje imaju najbolju posebnu kombinacionu sposobnost (PKS) za prinos zrna u ukrštanjima sa određenim testerom. Iz ukrštanja populacija sa svakim testerom, identifikovaće se hibridne kombinacije koje ispoljavaju visok heterotičan efekat, što ima za cilj da omogući formiranje heterotičnih grupa lokalnih populacija;
- da se primenom SSR markera izvrši molekularna karakterizacija odabranih lokalnih populacija i testera i izračunaju koeficijenti genetičke sličnosti/divergentnosti, kako između ispitivanih populacija, tako i u odnosu na korišćene testere, odnosno da se proceni genetički diverzitet ispitivanog materijala;
- da se upoređivanjem rezultata o fenotipskim vrednostima hibrida iz poljskih ogleda i molekularne karakterizacije roditeljskih genotipova utvrdi da li koeficijenti genetičke sličnosti/divergentnosti mogu biti pouzdani indikatori heterozisa;
- da se na osnovu dobijenih rezultata omogući introgresija germplazme lokalnih populacija u komercijalni oplemenjivački program, vodeći računa da se sačuva divergentnost heterotičnih grupa, kako bi se maksimizirao efekat heterozisa. Sveobuhvatni cilj je da unos gena iz lokalnih populacija u postojeći materijal bude planski izveden i da doprinese stvaranju novih inbred linija i F1 hibrida kukuruza.

III

PREGLED LITERATURE

3.1. Upotreba i privredni značaj kukuruza

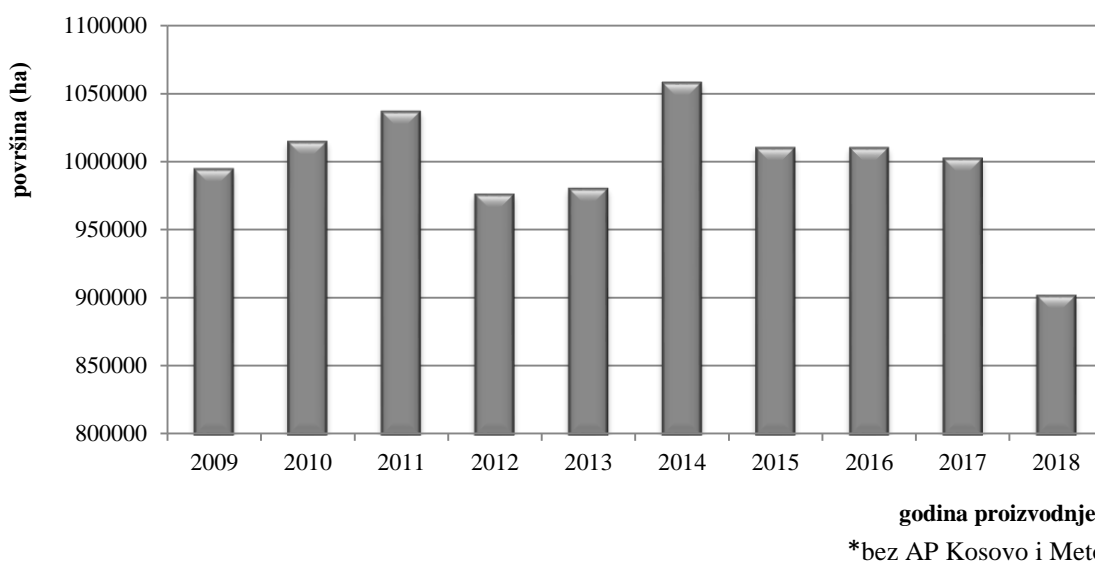
Kukuruz je po svojoj prirodi izrazito polimorfna vrsta i zahvata širok areal gajenja. Kukuruz se sreće na svim kontinentima, uspeva u tropskom, subtropskom i umerenom klimatskom pojasu. Za mnoge stare civilizacije i narode zapadne hemisfere (Maje, Asteke i Inke) kukuruz je bio proizvod, hrana, krma, trgovačka roba, ogrev i građevinski materijal, te naposljetku seme za obnavljanje proizvodnje.

Kukuruz je bio osnovna namirnica u prehrani stanovništva između, i nakon dva svetska rata. Danas se kukuruz tradicionalno koristi za spravljanje kukuruznog hleba, kukuruzne proje, kačamaka, komlova (stari oblik kvasca), kolača i pita. Takođe, pripremaju se pića kao što je boza i rakija od kukuruza; dok se kuvani kukuruz (šećerac) koristi tokom letnjih meseci, varica (kuvano zrno kukuruza) i kukuruz u turšiji, koriste se zimi.

Međutim, posle Druge industrijske revolucije kukuruz se masovno upotrebljava kao sirovina za rafinaciju i destilaciju različitih oblika industrijskih proizvoda (skroba, grizeva, glutena, ulja, sirupa i alkohola), i to gotovo na celoj zemaljskoj kugli. Danas je zanimljiv i lignocelulozni deo biljke kao sirovina za proizvodnju bioetanola, biorazgradive plastike, zatim papira, ambalaže, iverice, kartona i niza drugih tehničkih proizvoda (Torney et al., 2007; Schgiwietzke et al., 2008). Savremena era čovečanstva okrenuta ka čistoj - zelenoj energiji, kukuruz vidi kao sirovinu obnovljivog izvora.

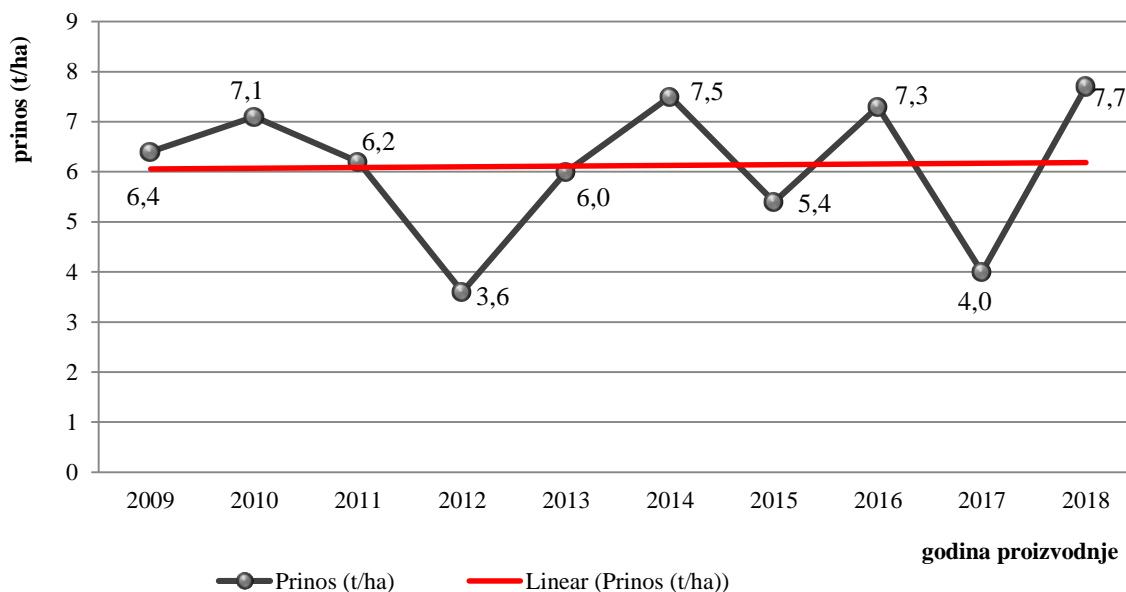
Posmatrajući sa agronomskog (biotehničkog) i genetičkog aspekta, napredak i razvoj u poljoprivrednoj proizvodnji sa sigurnošću je ostvaren otkrićem heterozisa kod kukuruza, zatim njegovim uvođenjem u proizvodnju, gajenje oplemenjenih sorti i stvorenih hibrida. Ubrzo nakon otkrića heterozisa, prinosi kod kukuruza se upetostručuju, što predstavlja dovoljan razlog zašto se napori i sredstva usmeravaju na unapređenje baš ove biljne vrste.

Prosečna površina zasejana pod kukuruzom u Republici Srbiji u proteklih deset godina (2009 - 2018) iznosi 998.466,8 ha, s druge strane, prosečna proizvodnja kukuruza u tom periodu iznosi 6,12 t/ha (Grafikoni 1 i 2). (RZS, 2019) Posmatrajući period od 2009. godine do danas, prinos linearno raste sa приметnim velikim oscilacijama između godina koje su uglavnom uslovljene nedostatkom padavina.



Grafikon 1. Prosečne površine pod kukuruzom u Republici Srbiji*od 2009. do 2018. godine

Izvor: Republički zavod za statistiku



*bez AP Kosovo i Metohija

Grafikon 2. Prosečni prinosi kukuruza u Republici Srbiji* od 2009. do 2018. godine

Izvor: Republički zavod za statistiku

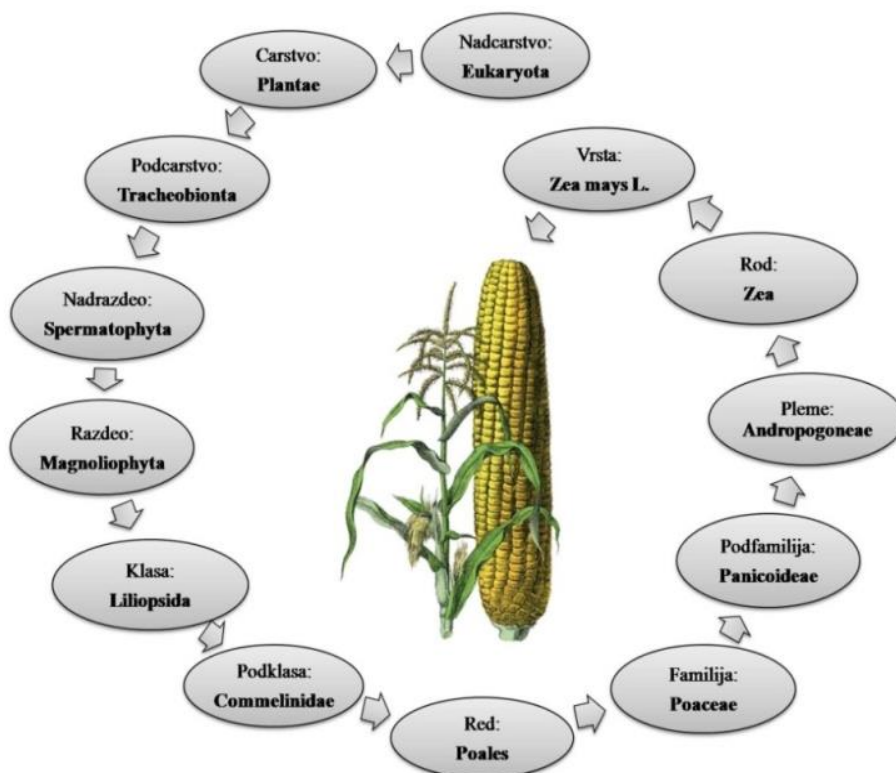
Zahvaljujući visokoj adaptabilnosti, potencijalu rodosti i raznovrsnoj primeni, kukuruz ne samo da je prihvaćen, već je u mnogim zemljama zauzeo primat u odnosu na ostale kulture. Posmatrajući svetsku proizvodnju kukuruza u proteklih deset godina (2008-2017), ona iznosi 960.525.613,2 t zrna godišnje, a odvija se na površini od 179.272.737,3 ha, sa prosečnim prinosom od 5,89 t/ha (FAOSTAT, 2019).

Zahvaljujući intenzivnom oplemenjivanju i unapređenju tehnologije proizvodnje, kukuruz beleži sve značajniji porast prinosa po hektaru. Predviđanja ukazuju da će se do 2050. godine potražnja za kukuruzom u svetu udvostručiti; s druge strane, očekuje se da će proizvodnja kukuruza biti najveća na globalnom nivou do 2025. godine (Rosegrant et al., 2009). Ovo se naročito odnosi na "zemlje u razvoju", kojima pripada i Republika Srbija. Međutim, novi izazov koji ugrožava dugoročnost proizvodnje kukuruza jesu klimatske promene (Cairns et al., 2012). Trenutni kapacitet adaptivnih mera na klimatske promene je prilično skroman u Republici Srbiji. Procena ranjivosti na klimatske promene i planiranje adaptacionih mera izuzetno su složeni procesi koji zahtevaju analize svih sektora društva i multidisciplinarni pristup (Popović i sar, 2014).

3.2. Fundamentalne činjenice o kukuruzu

Kukuruz (*Zea mays*) je jednogodišnja, monoecijska i stranooplodna biljka sa razdvojenim muškim i ženskim cvastima, a koja taksonomski pripada redu *Poales*, porodici *Poaceae* (trave) i podporodici *Panicoideae*. Nacionalni centar za biotehnološke informacije (*National Center for Biotechnology Information, NCBI*) i Informaciona mreža genetičkih resursa (*Germplasm Resources Information Network, USDA, ARS, GRIN*) kukuruz klasifikuju na način prikazan na Slici 1.

U okviru podfamilije *Panicoideae* ima više grupa (*grex*), kao što je *Maydeae*, koja uključuje sedam rodova, od kojih dva potiču sa zapadne hemisfere a pet iz Azije. *Zea* i *Tripsacum* (gama trava) su sa zapadne hemisfere i ovi rodovi su dosta proučavani, dok su se istraživači znatno manje bavili vrstama koje prirodno rastu u Aziji.



Slika 1. Prihvaćena klasifikacija kukuruza prema NCBI *USDA*, *ARS* i *GRIN*

Teozinte su prethodno svrstane u rod *Euchlaena*, ali su kasnije reklasifikovane u rod *Zea* koji sada ima pet vrsta:

1. *Zea diploperennis* - višegodišnja diploidna teozinta (H. H. Iltis et. al.)
2. *Zea perennis* - višegodišnja tetraploidna teozinta (Hitc., Reeves & Mangelsdorf),
3. *Zea nicaraguensis* - jednogodišnja teozinta (H. H. Iltis & B. F. Benz),
4. *Zea luxurians* - jednogodišnja teozinta (Durieu & Asch., R. M. Bird),
5. *Zea mays* L. - jednogodišnja diploidna vrsta kukuruza i druge teozinte. U okviru vrste *Z. mays* L., dalja klasifikacija je izvršena na četiri podvrste:

1. *Z. mays* L. *ssp. mays* - kukuruz i njegovi varijeteti kakve danas poznajemo,
2. *Z. mays* L. *ssp. huehuetenangensis* (H. H. Iltis & Doebley),
3. *Z. mays* L. *ssp. mexicana* (Schrad.) H. H. Iltis i
4. *Z. mays* L. *ssp. parviglumis* – poznata i kao *Balsas* teozinta (H. H. Iltis & Doebley).

Taksonomski posmatrano, klasifikacija tako varijabilne vrste kao što je *Zea mays*, nije nimalo laka i jednostavna. Američki istraživač *Sturtevant* je prvi detaljnije izvršio istraživanja velikog broja kultiviranih sorti (skoro 800) kukuruza i na osnovu toga predložio njihovu klasifikaciju, koju je kasnije dopunio Kulešov (1933). Ova klasifikacija, zasnovana na tipu zrna kukuruza, je sledeća:

1. zuban (*Zea mays indentata* Sturt.)
2. tvrdunac (*Zea mays L. indurata* Sturt.)
3. šećerac (*Zea mays L. saccharata* Sturt.)
4. kokičar (*Zea mays L. everta* Sturt.)
5. mekunac (*Zea mays L. amylacea* Sturt.)
6. voštanac (*Zea mays L. ceratina* Kulesk)
7. plevičar (*Zea mays L. tunicata* Sturt.)
8. poluzuban (*Zea mays L. semindentata* Kulesk)
9. skrobni šećerac (*Zea mays L. amylosaccharata* Sturt.).

Kukuruz nema svog direktnog divljeg srodnika, za razliku od drugih biljaka, kao što su pšenica, paradajz, ovas, itd. Prema molekularnim podacima i arheološkim dokumentima, do kojih su došli Piperno i Flanneri (2001), Matsuoka et al. (2002) i Van Heerwaarden et al. (2012), može se proceniti da se domestikacija kukuruza dogodila između 6000 i 10000 godina pre nove ere, a da je kukuruz nastao od jednogodišnje teozinte (*Zea mays spp. parviglumis*), endemita nizijskih predela jugozapadnog dela Meksika. Ovu hipotezu je tridesetih godina 20. veka zastupao *George Beadle*, a eksperimentalnim ukrštanjem jedne vrste jednogodišnje teozinte i kukuruza, zaključio je da je ova forma teozinte ista vrsta kao i kukuruz (Beadle, 1939). Međutim, njegova „teozinta hipoteza“ bila je u suprotnosti sa drugom, tada važećom hipotezom u akademskim krugovima „*The tripartite hypothesis*“ (Mangelsdorf i Reeves, 1938), koja govori da je predak kukuruza izumrla vrsta divljeg kukuruza iz oblasti Južne Amerike, a da je teozinta nastala ukrštanjem jedne vrste iz porodice trava – *Tripsacum* i kukuruza, te da veliki diverzitet kukuruza potiče od *Tripsacuma*. Genetska analiza upotpunjena sa preciznom fenotipizacijom (Doebley i Stec, 1991; Matsuoka et al., 2002, Doebley, 2004) potvrđuje ranije genetičke studije Beadle-a, (1980) pokazujući da se definisane razlike između kukuruza i teozinte nalaze na relativno malo lokusa.

Promene agronomskih osobina, kao što su pojava klipa i golog semena bez pleva omogućile su jednostavno gajenje, a lako i brzo širenje kukuruza (Wang et al., 2005). Kukuruz se iz Meksika zrakasto širio na sve strane novog kontinenta. Sve tri civilizacije, Maje, Asteci i Inke, smatrali su kukuruz svakodnevnom životnom potrebom, te su ga veličali kao kultnu biljnu vrstu. Mnogi arheološki nalazi govore da je ova kultura uzdizana do božanstva (Slika 2).



Yum Kaax - Bog kukuruza kod Maja

Centeotl - Bog kukuruza kod Asteka

Slika 2. Božanstva starih američkih civilizacija – idola kukuruza

Prelaskom nove biljke u Evropu kukuruz se zbog svoje sposobnosti da raste u različitim klimatskim uslovima, već 1494. godine gajio u Sevilji – Španija, a zatim se širio na sever do srednje Evrope i na istok, zahvatajući Mediteranske zemlje, i dalje postepeno dospeo na Balkan, Tursku i na Kavkaz. Prema Nikolić-u, (1927) kukuruz je u Srbiju došao iz Turske, preko Soluna i širio se na sever. Druga verzija, prema Radić-u (1872), a koja ne odbacuje prvu, je da je kukuruz u našu zemlju došao iz Italije, tako što je prvo došao u Dalmaciju oko 1572. godine, a zatim se širio na istok ka Srbiji (oko 1576. godine), Vojvodini (oko 1579. godine) i Crnoj Gori (oko 1575. godine), a zatim i u ostale delove Zapadnog Balkana. Prve dve introdukcije kukuruza na teritoriji Zapadnog Balkana desile su se u prvim decenijama 16. veka. Prve forme kukuruza koje su dospele u naše krajeve bili su tipovi tvrdušica sa Karipskih ostrva, Meksika i Anda (Brandenburg, 2017). Bez obzira kako i kojim putem je došao, značajno je da se kukuruz na ovim prostorima gaji već od 17.

veka. Treća introdukcija, u 18. veku, je obuhvatala tvrduce poreklom iz Kanade i Sjedinjenih Američkih Država, dok su se forme kukuruza grupe zubana (kukuruznog pojasa Amerike) počele donositi tek početkom 19. veka što čini četvrti talas introdukcije. U tom procesu nove populacije zubana su se ukrštale sa postojećim tvrducima i tako formirale populacije evropskog kukuruznog pojasa, što je bila poslednja veća prirodna hibridizacija značajna za evoluciju kukuruza u Evropi (Trifunović, 1978). Polovinom 19. veka, kukuruz je već uveliko raširen u podunavskim zemljama, zatim Italiji, južnoj Francuskoj, Nemačkoj i Švajcarskoj. S obzirom na raznolike klimatske uslove, kao i geografski položaj Zapadnog Balkana, različiti tipovi kukuruza našli su pogodne rejone za svoj rast i dalje širenje (Slika 3).



Slika 3. Putevi introdukcije kukuruza na prostore Zapadnog Balkana

Period prirodne, spontane selekcije na Zapadnom Balkanu trajao je oko 300 godina. Počeo je sa prvim introdukcijama koje su se desile u 16. veku, a trajao sve do kraja 19. veka i otkrića heterozisa, odnosno uvođenja hibridnih sorti u široku proizvodnju (1953). Taj period je jako značajan zbog formiranja brojnih populacija velike genetičke divergentnosti u uslovima prirodnog odabiranja i prilagođavanja uz zanemarljivo mali uticaj čoveka. U rečnim dolinama, plodnim ravninama i kotlinama uspevali su kasni i srednjestasi, a planinskim rejonima rani tipovi kukuruza. U raznim krajevima kukuruz je bio izložen različitom stepenu izolacije, selekcije i hibridizacije, pa su shodno tome neki introdukovani tipovi uspeali da se održe u donekle neizmenjenom obliku, dok su drugi, kroz proces hibridizacije i selekcije formirali specifične tipove, kombinujući osobine raznih izvornih tipova. Na taj način nastale su lokalne sorte - populacije kukuruza za koje možemo reći da predstavljaju autentične lokalne populacije evropskog kukuruznog pojasa (Babić i sar., 2012a).

Prvo najkompleksnije proučavanje domaćih populacija pretstavlja rad Pavličić i Trifunović, (1966), koja je bila osnova svih kasnijih istraživanja. Na osnovu analize morfoloških osobina, populacije sakupljene širom bivše Jugoslavije klasifikovane su u 16 osnovnih agroekoloških grupa i 2 evoluciono najmlađe grupe. Podela je izvršena na sledeće grupe:

- 1) crnogorski tvrdunci
- 2) osmaci kukuruza severoistočne Amerike
- 3) bosanski rani zubani
- 4) kosmetski polutvrđunci
- 5) makedonski tvrdunci
- 6) prelazni tvrdunci
- 7) mediteranski tvrdunci
- 8) sitnozrni tvrdunci
- 9) rumunski tvrdunci (tvrdunci predela Istočne Srbije)
- 10) tvrdunci krupnog klipa (dugoklipi tvrdunci)
- 11) beli poluzuban moravac
- 12) osmoređi meki zubani
- 13) zubani tipa kukuruznog pojasa SAD
- 14) zubani tipa južnih predela SAD-a
- 15) istarski zubani su izdvojeni u posebnu grupu prelazni zubani, jer se smatra da po svojim osobinama odgovaraju izvornom tipu – sorti *Gourdseed*, mada koji prema Brown i Andersonu, (1948) pripada južnim zubanima. Ovaj tip se u izvornom obliku nalazi samo u Istri.
- 16) srbijanski zubani, osim što su rasprostranjeni na prostoru Srbije, predstavljaju prelazni tip između zubana kukuruznog pojasa Amerike i južnih zubana. Presotala dva tipa:
- 17) tvrdi zubani i
- 18) meki tvrdunci predstavljaju izvedene tipove, a odnose se na kolekciju gde su bile kombinovane osobine različitih tipova koje nisu mogle biti klasifikovana u postojeće grupe.

Kasnije rađena (Radović i Jelovac, 1995) reklasifikacija lokalnih populacija, primenom metoda za numeričku klasifikaciju, uglavnom je potvrdila postojeće grupisanje, ali je dala bolju sliku odnosa između klasifikovanih grupa koji ukazuju na evoluciju tipova kukuruza u jugoslovenskim zemljama.

Kombinacija genetičkog i ekonomskog značaja učinila je kukuruz model biljkom za genomske studije (Mesing, 2005). Kukuruz poseduje jednostavan diploidni genom sa 10 parova hromozoma ($2n=20$) (Wei et al., 2007). Geni kukuruza sačinjeni su od genskih i intergenskih regiona. Prosečan gen kukuruza veličine je 4kb, a čini ga 5 egzona (segmenata gena koji se prevode u strukturu polipeptida), dok ostatak čine introni (umetnuti segmenti gena koji se ne prevode u strukturu polipeptida). Haberer et al., (2005) navode da najduži gen kukuruza ima 59 kb i 31 egzon, a da je veličina genoma kukuruza 2,4 Gb, što su potvrdila i istraživanja koja su sprovedli Bennetzen et al., 2005; Benntezen et al., 2009. Springer et al. (2009) smatraju da je pored fenotipske i genetske varijacije, primećena značajno velika varijacija u veličini genoma kod germplazme kukuruza tropskih i umerenih područja. Veličina genoma u rodu *Zea* varira u okviru vrsta, kao i između vrsta (Muñoz-Diez et al., 2012) i povezana je sa širokim spektrom fenotipskih odlika kukuruza, kao što su masa semena (Beaulieu et al., 2007), veličina lista (Sugiyama et al., 2005), porast (Tenailon et al., 2016), pa čak i vreme cvetanja (Rayburn et al., 1994).

Istraživanje koje je sprovedeno na liniji B73, otkriva da se genom kukuruza sastoji od 2,3 milijarde baznih parova. Korišćenjem dva metoda frakcionisanja generisano je čitanje jednog milona segmenata genoma upravo ove linije (Palmer et al., 2003; Whitelaw et al., 2003). Sekvenciranje genoma linije B73 (Schnable et al., 2009) i populacije kokičara iz Meksika *Palomero*, (Vielle-Calzada et al., 2010), su važni orijentiri u istraživanju genoma kukuruza, razumevanju njegove organizacije i evolucije. *Palomero* genom je manji od genoma linije B73, ali pokazuje veliki broj neistraženih sekvenci, što govori o postojanju široke genetske osnove neistraženih alela. Na osnovu ovih istraživanja mogu se formulisati strategije u oplemenjivanju kukuruza korišćenjem ovako dobijenih genomskih informacija. Budućnost sekvencioniranja i genotipizacije ogleda se u većem uvidu u samu strukturu i organizaciju genoma kukuruza, a u cilju brzog otkrivanja i upotrebe novih korisnih alela u selekciji kukuruza (Elshire et al., 2011).

3.3. Čuvanje genetičke varijabilnosti

Savremena agrotehnika i moderni oplemenjivački programi doveli su do enormnog suženja diverziteta gajenih biljaka, tačnije nestanka ili do ivice nestanka brojnih lokalnih populacija. Wilkes (1984) navodi da su genetička erozija, genetička ranjivost i genetičko nestajanje tri procesa koja trenutno utiču na gajene biljke, a da je sakupljanje prirodne varijabilnosti strateški cilj. Ruski botaničar, genetičar i selekcioner *Nikolaj Ivanovič Vavilov* je bio pionir u organizaciji ekspedicija i kolekcionisanja genetičkih resursa (Vavilov, 1987). Danas se smatra osnivačem nauke o istraživanju, konzervaciji i korišćenju genetičkih resursa. Materijal sakupljen u okviru njegovih ekspedicija i danas se čuva u Institutu za primenjenu botaniku i nove useve u Sankt Petersburgu (VIR). Prema Hawkes-u (1987), njegov veliki doprinos je u tome što je ukazao na izuzetnu važnost genetičkog diverziteta koji postoji u drevnim sortama, stvaranim kroz više milenijuma u tradicionalnim poljoprivrednim sistemima na raznim stranama sveta. Značaj njegovog rada se takođe ogleda u definisanju centara porekla (diverzifikacije) gajenih biljnih vrsta (Vavilov, 1926).

Neophodnost da se očuva genetička varijabilnost kulturnih biljaka rezultirala je u formiranju i razvijanju programa za očuvanje biljnih genetičkih resursa, a nešto kasnije i programa za njihovo iskorišćavanje - predoplemenjivanje.

Formirane banke gena obavljaju dva glavna zadatka:

- 1) očuvanje biološke divergentnosti za buduće generacije i
- 2) efikasno korišćenje raspoložive germplazme.

Očuvanje biljnih genetičkih resursa se obavlja uglavnom primenom dve glavne *in vivo* strategije, *ex-situ* i *in-situ* konzervacijom. *Ex situ* konzervacija je sakupljanje uzoraka iz njihovih prirodnih staništa, a čuvanje se obavlja van tih područja, dok *in-situ* konzervacija obuhvata održavanje uzoraka gajenjem u uslovima njihovih prirodnih staništa. *Ex situ* konzervacija omogućava čuvanje uzoraka na dugi rok u obliku semena, kulturama ćelija, tkiva ili organa, a u novije vreme i na nivou DNK molekula krioprezervacijom. Danas postoji čitava mreža međunarodnih organizacija čiji je zadatak kolekcionisanje i čuvanje genetičkih resursa, kao što je Konsultativna grupa za međunarodna poljoprivredna istraživanja (CGIAR – *Consultative Group on International Agricultural Research*). Ovoj grupi pripadaju centri i instituti kao što su: Međunarodni centar za oplemenjivanje kukuruza i pšenice (*The International Maize and Wheat Improvement Center – CIMMYT*), Međunarodni institut za istraživanje pirinča (*The International Rice Research Institute – IRRI*), Internacionalni centar za poljoprivredno tropsko bilje (*Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT*), Internacionalni centar za krompir (*International Potato Center – CIP*), Internacionalni centar za poljoprivredna istraživanja (*International Center for Agricultural Research in the Dry Areas – ICARDA*), *West Africa Rice Development Association – WARDA*, *International Livestock Research Institute – ILRI* i dr. Tokom 1974. godine osnovan je i Internacionalni institut za biljne genetičke resurse (*International Plant Genetic Resources Institute – IPGRI*), sa zadatkom stručne i finansijske pomoći. Aktivnosti u bankama gena odvijaju se po međunarodno usvojenim standardima, koji omogućavaju jednostavniju kooperaciju, razmenu materijala i informacija. Sakupljeni genetički resursi su najčešće svrstani u sledeće kategorije: sorta, lokalna populacija, poboljšane populacije (kompoziti, sintetici različitih ciklusa selekcije), divlji srodnik, biljke sa genetičkim specifičnostima (*special genetic stock*), selekcioneri materijali (linije i hibridi). Kukuruz je vrsta koja obiluje diverzitetom i jedna je od najočuvanijih po broju uzoraka koji se čuvaju u bankama biljnih gena širom sveta (Ortiz et al., 2010). Trenutno se u oko 300 banaka gena nalazi 327.932 uzoraka kukuruza, dok je procena broja jedinstvenih populacija između 58.000 i 80.000 (FAO, 2010). Biljni genetički resursi jedne zemlje predstavljaju njeno prirodno bogatstvo, stoga je projekat formiranja genofonda za potrebe Banke biljnih gena započet još 1989. godine. Danas, u sklopu Direkcije za nacionalne referentne laboratorije u Beogradu postoji Nacionalna banka biljnih gena. Takođe, treba napomenuti da se genetički resursi pojedinih vrsta čuvaju i u kolekcijama pojedinih istraživačko - razvojnih instituta i privatnih kompanija koji se bave oplemenjivanjem biljaka. Zahvaljujući velikom međunarodnom programu, prvo prikupljanje lokalnih populacija kukuruza na teritoriji bivše Jugoslavije rađeno je u periodu od 1962. do 1964.

godine, kada je prikupljeno preko 1000 uzoraka lokalnih populacija. Projekat je finansiran od strane Ministarstva za poljoprivredu SAD-a (*United States Department of Agriculture - USDA*), Federalne organizacije za finansiranje naučnih istraživanja (*Federal Funding for Scientific Research*) i tadašnjeg Jugoslovenskog saveznog udruženja istraživača koje je okupljalo fakultete i institute iz ove oblasti. Rezultat ovog programa predstavlja i osnivanje Banke gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje”. Danas se, po broju uzoraka, Banka gena Instituta za kukuruz nalazi među deset najvećih u svetu (FAOSTAT, 2010). U okviru ove Banke gena čuva se kolekcija od 2217 populacija sakupljenih na prostoru bivše SFR Jugoslavije, 3258 uzoraka introdukovane germplazme, od čega 2256 inbred linija, 796 populacija i 207 kompozita i sakupljenih iz 40 zemalja sveta.

Lokalne populacije kukuruza predstavljaju ključnu komponentu agrobiodiverziteta zbog njihove prilagođenosti specifičnim lokalnim uslovima, a njihova raznolikost unutar populacije je važna za postizanje stabilnosti prinosa u kompleksnim uslovima spoljašnje sredine (Zhu et al., 2000). One mogu biti značajan izvor poželjnih svojstava za oplemenjivačke programe (Murariu et al., 2011). Važno je naglasiti da pored *ex situ* kolekcija koje dominiraju (Anđelković i sar. 2017), od značaja mogu biti i lokalne populacije koje su se održale u uslovima (*in situ*) dinamičke konzervacije na poljima lokalnih poljoprivrednih proizvođača (Brush, 1995; Brown, 1999; Zhu et al., 2003).

3.4. Predoplemenjivanje – koncept efikasnog korišćenja genetičkih resursa

Savremena tehnologija gajenja, genetičko poboljšanje ugrađeno u nove hibride, kao i interakcija ova dva faktora, doveli su nas do nivoa na kome se sada nalazimo. Kontinuiranom selekcijom vršeno je poboljšanje starih lokalnih sorti kukuruza. Poboljšane sorte služile su kao početni materijal za nova poboljšanja. Potomstvo sledećih ciklusa poboljšanja postajalo je početni materijal za dobijanje prvih linija i hibrida, a ove opet u različitim kombinacijama kao osnova za selekciju novih, boljih linija i hibrida. Međutim, danas se komercijalni hibridi kukuruza zasnivaju na uskoj genetičkoj osnovi, čije su roditeljske komponente elitne inbred linije, a od kojih se za kratak vremenski period očekuju što bolje agronomске performanse (Goodman, 1990). Tokom evaluacije pet različitih centralnoevropskih slobodnooprašujućih lokalnih populacija, 85 hibrida i njihovih roditeljskih komponenti sa ukupno 55 SSR markera, utvrđeno je da genetička varijacija unutar i između ispitivanih hibridnih varijeteta značajno opada tokom perioda od pet decenija (Reif et al., 2005). Istovremeno je dokazano da pet centralnoevropskih lokalnih populacija sadrži brojne jedinstvene alele koji se ne nalaze u elitnom *pool*-u tvrđunaca. Vrlo niska diferencijacija koja je primećena među varijetetima iz poslednje dve decenije treba da upozori na činjenicu da je neophodno uvećati genetsku bazu oplemenjivačkih programa. Stoga, genetska raznolikost tih hibrida i njihovih elitnih linija u poređenju sa velikom genetskom raznolikošću dostupnom u bankama gena je zasigurno ograničena (Le Clerc et al., 2005). Hallauer i Carena (2009) navode da postoji ogroman jaz između raspoložive genetske varijabilnosti elitnih oplemenjivačkih programa, koji koriste svega 5% dostupne varijabilnosti koje poseduju banke gena. Ovo predstavlja globalni problem, a postoje brojni objektivni razlozi ovakve situacije, kao na primer: nedostatak dokumentacije i odgovarajućeg opisa kolekcije, nedostatak informacija važnih za proces oplemenjivanja, neadaptirani uzorci kukuruza i nedostupnost potrebne količine semena; veliki broj uzoraka u banci gena, uglavnom sa nepoželjnim osobinama posmatrano iz ugla moderne poljoprivredne prakse, agrotehnike i oplemenjivanja.

S jedne strane, aktivnosti usmerene na karakterizaciju i poboljšanje materijala u banci gena su skup i dugotrajan proces, dok krajnji rezultati u komercijalnom smislu nije uvek izvestan. S druge strane, oplemenjivači kukuruza ne žele da rad usmere izvan elitne germplazme, jer migracija potencijalno vrednih alela germplazme lokalnih populacija u elitnu germplazmu obično prati smanjenje komercijalnih performansi (Rasmusson i Phillips, 1997). Sužavanjem genetičke osnove pojačavaju se nedostaci koje sa sobom nosi uniformnost materijala, a ogledaju se kroz povećanje ranjivosti na različite vrste biotičkog i abiotičkog stresa. U kojoj meri će se iskoristiti raspoloživa varijabilnost sačuvana u bankama gena zavisi od uloženog rada i sredstava za unapređenje tog materijala. Pozitivni primeri u svetu nam govore da pravilno korišćenje bogatstva genetičkih resursa

kukuruz, dovodi do unapređenja koja u krajnjoj liniji kroz povećanje prinosa u proizvodnji merkantilnog kukuruza mogu imati ogroman ekonomski značaj.

Očuvanje raznovrsnosti genetičkih resursa (Ortiz et al., 2010), značaj genetičke raznovrsnosti za preživljavanje i razmnožavanje, kao i prethodno pomenute poteškoće sa efikasnom upotrebom ovih resursa su povod za stvaranje *prebreeding* (predoplemnjivačkog) koncepta. Marsall (1989), Rodrigues i Chaves (2002), Carena (2005) smatraju da je najveći ograničavajući faktor za korišćenje lokalnih populacija i egzotične germplazme iz kolekcija banaka gena manjak programa predoplemenjivanja. Predoplemenjivanje je najperspektivniji način povezivanja genetičkih resursa i oplemenjivačkih programa. Odnosi se na sve aktivnosti koje su osmišljene da identifikuju poželjne osobine i/ili gene iz neadaptiranih (egzotičnih ili poluegzotičnih) materijala, uključujući i one koji su se adaptirali, ali nisu bili podvrgnuti nekoj vrsti selekcije u cilju poboljšanja (Taba, 1994; Nass i Paterniani, 2000). Osnovni cilj predoplemenjivanja je formiranje novih *pool*-ova (skupova) gena za potrebe oplemenjivačkih programa, a banka gena je bogat izvor poželjnih alela za različite osobine. Očekuje se da je materijal koji proizilazi iz predoplemenjivanja u dovoljnoj meri adekvatan za klasične programe oplemenjivanja. Cilj ovog koncepta nije dobijanje novih sorti i hibrida, već stvaranje germplazme koja će moći da se uključi u oplemenjivanje, direktno ili indirektno, za dobijanje novih genotipova (Nass i Paterniani, 2000). Kako je predoplemenjivanje dugotrajan proces, neophodna je bliska saradnja između privatnih i javnih institucija, jer to može da bude od velike koristi za unapređenje programa predoplemenjivanja (Smith i Duvick, 1989; Nass et al., 1993). Veoma uspešne predoplemenjivačke aktivnosti na kukuruзу ostvarene su kroz projekte LAMP (*Latin American Maize Project*), GEM (*Germplasm Enhancement of Maize*) i GENRES. Prema navodima Salhuana et al., (1997) i Salhuana (1998), LAMP-ov značaj ogleđa se u evaluaciji agronomskih svojstava na preko 14.000 uzoraka iz više banaka gena Sjedinjenih Američkih Država i Latinske Amerike u cilju identifikacije najboljih za dalje potrebe oplemenjivanja. GEM projekat je imao za cilj efikasno povećanje diverziteta germplazme kukuruza u SAD, uključujući nove izvore, koja će biti dostupna svim istraživačima kroz NCRPIS (*North Central Regional Plant Introduction Station*), (Pollak, 2003). EU GENRES je projekat koji je za šest godina trajanja uspeo da formira evropsku jezgrovnu kolekciju populacija kukuruza (*European Maize Landraces Core Collection-EMLCC*) (Gousnard et al., 2005). Karakterizacijom skoro 3000 lokalnih populacija Evrope, formirane su nacionalne kolekcije. Te kolekcije su dalje analizirane molekularnim markerima, tako da je rezultat projekta bio 96 uzoraka ocenjenih prema toleranosti na sušu, niskom sadržaju azota, kvalitetu zrna i sl.

Kako bi se proširila genetska baza komercijalnog oplemenjivačkog materijala kontinuirano uvođenje nove germoplazme je neophodno. Brojni su pozitivni primeri gde su lokalne populacije prilagođene lokalnim agroklimatskim uslovima odigrale važnu ulogu u ovom procesu. Prema Ivanoviću et. al. (2002), čak i najmanje učešće lokalne germplazme može imati veliki uticaj na agronomске osobine hibrida. Četiri linije kukuruza (NS796, R70Ž, NS568 i ZPPE25-10-1), koje su nastale uz učešće germplazme lokalnih populacija, imale su značajan uticaj na procese oplemenjivačkih programa naših Instituta. NS796 je nastala iz Vukovarskog žutog zubana, R70Ž – iz lokalne populacije Rumski zlatni zuban, NS568 je razvijena pedigree selekcijom, ukrštanjem između inbred linije BSSS heterotičnog porekla i prilagođenog materijala iz Panonske nizije, linija PE25-10-1 je dobijena pedigree selekcijom, iz ukrštanja linije *Lancaster* grupe i linije ZPPE25-10 poreklom iz populacije Pečkog žutog zubana. Ove četiri inbred linije bile su komponente nekada vodećih komercijalnih hibrida: NSSC70, ZPSC46a, NSSC640 i ZPSC677. Ovi hibridi, zajedno sa drugih pet hibrida (do 2002. godine kada su podaci objavljeni), bili su uzgajani na približno sedam miliona hektara, što predstavlja petogodišnju proizvodnju na prostorima bivše Jugoslavije. Jedino dobrim odabirom početnog materijala, a prolazeći kroz program predoplemenjivanja isti može dobiti na značaju. Uspeh u odabiranju početnog materijala u koji će se kasnije uložiti selekcion rad zavisi od korišćenog materijala i kriterijuma za odabiranje. Idealna populacija koja će služiti kao početni materijal trebalo bi da poseduje visok prosek osobina, značajnu genetičku varijabilnost, široku adaptabilnost, dobru kombinacionu sposobnost i frekvenciju poželjnih alela višu od 0,5. U slučajevima kada se žele dobiti informacije o većem broju populacija, Geadelmann (1986) predlaže

korišćenje nekoliko tipova informacija: geografsko i genetičko poreklo, iskustvo drugih selekcionera i prethodnih istraživanja, posmatranja osobine populacija *per se*, kombinaciona sposobnost i heterotični model, kao i neki novi pristupi, pod koje sa sigurnošću možemo navesti molekularne metode za preciznu karakterizaciju.

Predoplemenjivački programi oplemenjivanja mogu da stvore nove početne populacije za oplemenjivačke programe i da pomognu u dobijanju informacija o njihovom heterotičnom potencijalu, što je neophodno za hibridne oplemenjivačke programe (Popović i sar., 2014). Praktično gledano, nije moguć rad sa velikim brojem populacija, zato različiti jednostavniji metodi mogu pružiti manje ili više podataka neophodnih za izbor početnog materijala. Izbor određenog metoda zavisi od postavljenog cilja, tipa materijala koji se ispituje i njegovog obima. Predoplemenjivanje zahteva multidisciplinarni pristup i zajedničku komunikaciju između rukovodilaca banaka gena i oplemenjivača, kako bi zajednički izgradili najbolju strategiju kombinovanja genetičkih resursa i ekspertizu za postizanje zajedničkog zadatog cilja – sirovine za komercijalne oplemenjivačke programe.

Selekciona praksa i brojni eksperimenti u oplemenjivanju i selekciji kukuruza ukazuju da je izbor početnog materijala prvi važan korak u svakom programu oplemenjivanja. Pri izboru početnog materijala adaptiranog na uslove u kojima se ispituje, važan je visok prosek poželjnih osobina. Pri frekvenciji poželjnih alela manjoj od 0,5 i parcijalnoj do kompletnej dominaciji, što je verovatno slučaj kod većine kvantitativnih osobina u najvećem broju današnjih populacija kukuruza, može se očekivati da će brzina poboljšanja pod uticajem selekcije biti približno ista za različite nivoe poželjnih osobina; te će za isto vreme (broj ciklusa) i intenzitet selekcije postići veći krajnji uspeh ako se pođe od početnog materijala sa najvišim mogućim nivoom poželjnih osobina. Visok prosek poželjnih osobina obezbeđuje veće šanse dobijanja superiornih linija direktnom selekcijom (samooplodnjom) iz populacije i/ili zahteva manji broj ciklusa selekcije za dostizanje željenog nivoa osobine u okviru populacije.

Visoka genetička varijabilnost predstavlja takođe poželjnu osobinu početnog materijala. Progres pod uticajem selekcije direktno je proporcionalan iskoristljivom delu genetičke varijabilnosti prisutne u populaciji (Hallauer i Miranda, 1981). Populacije sa većom genetičkom varijabilnošću, koje se mogu koristiti u selekciji, predstavljaju bolji početni materijal, jer će brzina poboljšanja, a time i krajnji domet za isti period i intenzitet selekcije, biti veći.

Opšta je činjenica da su tvrdunci varijabilniji od zubana. To se može objasniti da su tvrdunci ranije nastajali i duže se gajili, što je dovelo do adaptacije na različite ekološke uslove. Kod ranih materijala FAO grupe od 100 do 200 ima mnogo više različitih heterotičnih grupa koje nisu jasno definisane u odnosu na srednje rane FAO grupe od 300 do 400, srednje kasne FAO grupe od 500 do 600 i kasne FAO grupe od 700 do 800. Uslovi u kojima je rađena masovna selekcija u lokalnim populacijama kukuruza, a iz kojih su nastali rani materijali, su mnogo divergentniji i varijabilniji u odnosu na uslove u kojima je rađena selekcija srednje ranih, srednje kasnih i kasnih hibrida (M. Filipović, lična komunikacija). Brandolini, (1969) navodi da su italijanski i tvrdunci Zapadnog Balkana najvarijabilniji u Evropi. Većina hibrida iz rane grupe zrenja koji se uzgajaju u Centralnoj i Severozapadnoj Evropi su *single crosse*-vi između inbred linija tvrdunca i zubana (Barrière et al., 2006). Molekularnom analizom otkrivena je uža genetska osnova heterotične grupe tvrdunca u poređenju sa heterotičnom grupom zubana koji se standardno upotrebljavaju pri oplemenjivanju (Stich et al., 2005; Van Inghelandt et al., 2010). Roditeljske inbred linije tvrdunaca su se razvile samooplodnjom od nekoliko evropskih slobodno oprašujućih sorti, kao što su *Lacaune*, *Lizagaraute*, *Gelber Badischer Landmais* i *Rheintaler* (Messmer et al., 1992). Tako su linije prvog ciklusa selekcije stvorene samooplodnjom lokalnih populacija, a formirane na heterotičnoj osnovi tvrdunca. Primeri linija koji uključuju heterotične osnove tvrdunaca su: F2 i F7 dobijenih iz francuske lokalne populacije *Lacaune*, DK105 od nemačke lokalne populacije *Gelber Badischer* i EP1 dobijene iz španske lokalne populacije *Lizagaraute*. Introgresija germplazme tvrdunaca u tip zubana, omogućila je ranu setvu i porast, kao i veću toleranciju na sušu, a zuban je doveo do povećanja prinosa. Dakle, lokalne populacije kukuruza jugoistočne Evrope su genetski bile izolovane dugi niz godina od kukuruza Severne Amerike (Leng et al., 1962). To su uglavnom bili

tipovi tvrdunaca uzgajani u različitim regionima. Pavličić i Trifunović, (1966) su utvrdili izvanredno bogatstvo tipova tvrdunaca, a koji su najranije uvedeni na prostore Zapadnog Balkana. Neke od tih lokalnih populacija su se zadržale u čistom obliku sve do uvođenja hibrida u proizvodnju. Uglavnom su se u nepristupačnim predelima sačuvali autohtoni tipovi. Jedan od primera autohtonih tipova su Crnogorski tvrdunci izrazite raznovrsnosti. Međutim, bogatstvo tvrdunaca se ogleda i u Mediteranskim, Makedonskim, kao i tvrduncima krupnog klipa koji su se razvili u određenim lokalnim mikroklimatskim reonima. Prelazni tvrdunci su jako varijabilna grupa i široko su rasprostranjeni na višim terenima Zapadnog Balkana. Radović i Gerić, (1986) navode da je najveći broj otpornih lokalnih populacija prema truleži klipa indentifikovan kod Crnogorskih tvrdunaca, Osmaka tipa severoistočne Amerike i Belog poluzubana Moravca, dok je kod Makedonskih tvrdunaca i Kosmetskih polutvrdunaca nađen veliki broj populacija koje nose otpornost na napad kukuruznog plamenca. Takođe, manji broj otpornih genotipova prema prouzrokovateljima truleži stabla nađen je u grupi Tvrdunaca krupnog (dugog) klipa i Rumunskim tvrduncima.

Prema navodima Radović (1980), jedan deo genetičke varijabilnosti populacija iz grupa zubana koje su kao takve donete u naše krajeve, poslužio je za dobijanje inbred linija koje su se dobro ukrštale sa elitnim američkim populacijama (*Stiff Stalk Synthetic i Lancaster*); drugi deo genetičke varijabilnosti populacija odnosio se na grupu ranostasnih tvrdunaca koja je iskorišćena u selekciji za stvaranje linija. Međutim, ove autohtone populacije tvrdunaca predstavljaju visoko heterozigotne forme. Tokom samooplodnje jako brzo su se „cepale” tj. genetski razdvajale (*genetic drift*), te je bilo teško dobiti kvalitetne linije isključivo od domaće germplazme. Danas, iskustvo o ovom problemu govori da se sa populacijama ovog tipa dobri rezultati jedino mogu postići cikličnom, rekurentnom selekcijom ili introgresijom u elitnu germplazmu primenom metoda povratnih ukrštanja. Tačnije, prvo je potrebno pronaći visok nivo frekvencije poželjnih alela u ovim populacijama cikličnom rekurentnom selekcijom; a onda ih ukrštati u cilju inkorporacije poželjnih gena u elitne linije.

Molekularnom analizom je utvrđeno da je samo mali deo bogate genetičke osnove, koji je dostupan u evropskim lokalnim populacijama, upotrebljen za stvaranje elitne germplazme tvrdunaca (Dubreuil i Charcosset, 1999). Stoga, deluje obećavajuće da se ponovo istraži i oceni oplemenjivački potencijal lokalnih populacija tvrdunaca uz primenu savremenih metoda i tehnika čime će se dobiti prava slika njihove postojeće varijabilnosti i značaja za oplemenjivačke programe (Böhm, 2014). Uviđajući ove činjenice, u istraživanjima koja su sprovedena, upravo je iz tog razloga dat značaj ranostasnim varijetetima tvrdunaca čvrstog stabla, nisko pozicioniranog klipa i visokog potencijala rodnosti. Za očekivati je da će se introgresijom germplazme tvrdunaca, u postojeće radne kolekcije oplemenjivača, povećati verovatnoća stvaranja hibrida boljeg nutritivnog i tehnološkog kvaliteta zrna.

3.5. Različiti pristupi u proučavanju germplazme kukuruza

Postoje različiti pristupi u proučavanju osobina, procesi i načini identifikacije i karakterizacije germplazme kukuruza koji se koriste u oplemenjivačkim programima. Glavni cilj ovakvih proučavanja je što bolje spoznavanje germplazme kako bi se otkrili i identifikovali novi i/ili retki aleli od značaja za agronomski važne osobine. Za ispitivanje raznovrsnosti germplazme kukuruza, mogu se koristiti: fenotipski pristup - baziran na morfološkim markerima i molekularni pristup - baziran na različitim tipovima molekularnih markera.

Fenotipski pristup u proučavanju osobina odnosi se na morfološke markere. Morfološki markeri su vezani za morfološke i agronomске osobine čije je nasleđivanje moguće pratiti posmatranjem pojave određenog fenotipa (Tanksley, 1983). Morfološki markeri su oblici različitih osobina (kvantitativnih ili kvalitativnih) jednog organizma na osnovu kojih se on razlikuje u odnosu na druge organizme. Uglavnom su pod kontrolom poligena, a njihove vrednosti su pod velikim uticajem uslova spoljašnje sredine. Zbog plejotropnog efekta Poehlman (1995) navodi da jedan morfološki marker može uticati na drugi ili osobinu od interesa. Usled nepoznatog mehanizma genetičke kontrole i velikog uticaja spoljne sredine u procesu ekspresije osobina, o morfološkim

markerima se često govori kao manje pouzdanim pokazateljima genetičkih odnosa. Ti nedostaci se odnose na potreban broj fenotipskih markera u nekom istraživanju, koji je često nedovoljan u zavisnosti od vrste. Dobijeni podaci često su nepouzdana zbog uticaja faktora spoljašnje sredine na njihovu ekspresiju, subjektivnost ocenjivača prilikom vizuelne ocene određenih osobina itd. Moć diskriminacije genotipova uglavnom varira u zavisnosti od karakteristika koje se koriste kao deskriptori. Lootens et al., (2013) navode da su visina biljke, dužina korena, intenzitet zelene boje listova, položaj listova na biljci, osobine koje imaju malu moć diskriminacije. Postojeći nedostaci kod fenotipskih markera prema Babić i sar. (2011) mogu se prevazići korišćenjem međunarodno usaglašenih deskriptora kao što je *UPOV (International Union for the protection of New Varieties of Plants)* deskriptor koji se koristi u procesu zaštite prava oplemenjivača. Ortiz et al. (2008) ističu značaj fenotipskih markera za klasifikaciju germplazme kukuruza uz odgovarajuće statističke metode. Oni smatraju da su fenotipski markeri pouzdani samo za osobine kukuruza koje poseduju veliku genetičku varijabilnost i heritabilnost. Morfološki markeri se tradicionalno koriste u deskripciji osobina kukuruza u agronomskim istraživanjima, što zahteva da se individue gaje i prate tokom svih faza rasta i razvoja. Takođe, značaj ovih markera se ogleda i u činjenici da se na taj način prati individua u kompletnom životnom periodu, uzimajući u obzir i uticaj spoljašnje sredine.

Molekularni pristup u proučavanju osobina i selekcija pomoću molekularnih markera je komplementarna klasičnom fenotipskom pristupu i selekciji pomoću fenotipskih markera, a od velikog je značaja kod analize agronomskih osobina čija su merenja i ocene komplikovane (kvalitet, biohemijske karakteristike) ili skupe (višelokacijski ogledi za ocenu prinosa). Genetički markeri predstavljaju delove molekula DNK koji poseduju jedinstvenu i prepoznatljivu karakteristiku, odražavajući genetičke razlike između različitih vrsta ili jedinki iste vrste. Genetičke markere je moguće podeliti na morfološke, biohemijske i molekularne. Biohemijski markeri se zasnivaju na polimorfizmu proteina i obuhvataju strukturne proteine, rezervne proteine semena i izoenzime. Ova vrsta markera našla je široku primenu u izučavanju diverziteta kukuruza sve do pojave DNK markera, koji su prevazišli njihov relativno nizak nivo polimorfizma. Uvođenjem i primenom molekularnih markera u izučavanju i iskorišćenju genetičkih resursa kukuruza stvorili su se uslovi za pouzdanu identifikaciju i verifikaciju postojećih i novih genotipova u kolekcijama, detekciju duplikata kolekcije, analizu genetičke čistoće kolekcije, utvrđivanje genetičkih promena tokom dugogodišnjeg čuvanja na niskim temperaturama, utvrđivanje genetičkog *drifta* u strukturi heterogenih uzoraka, analizu genetičke divergentnosti, stvaranje sržnih (jezgrovnih) kolekcija (Anđelković et al., 2014). Molekularni markeri su takođe našli primenu u procesu identifikacije i selekcije poželjnih genskih izvora i njihovo korišćenje u programima oplemenjivanja je sve prisutnije. Poslednjih godina, selekcija pomoću markera ili marker asistirana selekcija (MAS) zauzima sve značajniju poziciju u procesu oplemenjivanja kukuruza, u cilju povećanja efikasnosti selekcije na osobine od agronomskog i ekonomskog interesa, naročito kvantitativnih osobina koje su pod uticajem većeg broja gena i činilaca spoljašnje sredine (Hoisington et al., 1999).

Molekularni DNK markeri predstavljaju specifične DNK sekvence unutar gena (DNK polimorfizam), a ukazuju na različit alelni oblik gena. Omogućuju identifikaciju lokusa koji utiču na genetičku varijabilnost kvalitativnih i kvantitativnih osobina i selekciju superiornih genotipova za date lokuse. U odnosu na fenotipske markere, molekularni markeri se mogu detektovati u svim biljnim tkivima nezavisno od faze rasta i razvoja, uticaja faktora spoljašnje sredine, plejotropnih i epistatičkih efekata. Ovi markeri su se pokazali dobri i efikasni za evaluaciju i selekciju kukuruza, pri čemu se lako izoluju iz biljnog materijala, a analize su prilično jednostavne. Dodatna prednost molekularnih markera je što nisu pod uticajem spoljašnje sredine. Brojne su studije o tipu molekularnih markera koje daju najbolju procenu genetičkih odnosa, kao i o broju prajmera koje je neophodno uključiti. Različite vrste molekularnih markera se koriste za procenu DNK polimorfizma, a njihova klasifikacija može se izvršiti na markere zasnovane na hibridizaciji i markere zasnovane na lančanoj reakciji polimeraze (PCR - *Polymerase Chain Reaction*). Postoje dve grupe PCR metoda, od kojih je jedna sa nasumičnim prajmerima (RAPD - *Random Amplified Polymorphic DNA* i AFLP - *Amplified Fragment Length Polymorphism*), a druga sa prajmerima koji umnožavaju poznate sekvence (SSR - *Simple Sequence Repeats*).

Mikrosateliti (Litt i Luty, 1989), ili SSR markeri su ponovci jednostavnih, kratkih nukleotidnih sekvenci, koje se sastoje od jedan do šest nukleotidnih baznih parova (Chambers i MacAvoy, 2000), a njihova ukupna dužina iznosi 1000 bp koji se u tandemu ponavljaju u datoj sekvenci kao mono-, di-, tri-, tetra i penta-nukleotid (A, T, AT, GA, AGG, AAAG itd.). Polimorfizam amplifikovanih genomskih sekvenci nastaje usled razlika u broju tandemskih ponovaka koji se nalaze između prajmera (Prodanović i sar., 2001). SSR markeri su ko-dominantni markeri, čija je prednost, u odnosu na druge molekularne markere, u njihovoj značajnoj zastupljenosti u genomu, velikom alelnom diverzitetu. Zbog njihovog visokog stepena varijabilnosti posebno su pogodni za razlikovanje srodnih genotipova i zato se često koriste u analizama varijabilnosti populacija (Smith i Devey, 1994), kao i za identifikaciju blisko povezanih sorti (Vosman et al., 1992). SSR markeri su korišćeni u različitim studijama. Ponovljivost mikrosatelita je takva da se mogu efikasno koristiti u različitim laboratorijskim istraživanjima, pri čemu su dobijeni podaci nepromenjeni (Sagai Maroof et al., 1994). Jedna od značajnih studija sprovedena u CIMMYT-u je karakterizacija tropskog, subtropskog i umerenog materijala za oplemenjivanje kukuruza (Reif et al., 2004). Prema navodima Bracco et al. (2009), SSR markeri su korišćeni i za karakterizaciju autohtonih populacija kukuruza severoistočne Argentine. Uspešno su korišćeni u analizi genetičke raznovrsnosti u Kini, Indiji, Indoneziji i Tajlandu (Prassana et al., 2010). Beyene et al. (2006) su koristili SSR markere za ispitivanje uzoraka kukuruza planinskog područja Etiopije, dok su iste markere Patto et al. (2004) koristili za karakterizaciju germplazme kukuruza u Portugalu. Iako su SSR markeri veoma informativni, lokus specifični, multi-alelni i distribuirani kroz čitav genom (Röder et al., 2002; Gadaleta et al., 2009); troškovi dizajniranja prajmera, nedostupnost za određene nedovoljno istražene vrste, greške prilikom PCR umnožavanja i otežanog tumačenja profilnih traka, predstavljaju glavne nedostatke.

Identifikacija (*fingerprinting*) populacije zahteva uzorkovanje dovoljnog broja uzoraka i izračunavanja frekvencije alela unutar populacije. Međutim, visoki nivoi unutarpopulacijske raznovrsnosti, tipične za slobodnooprašujuće sorte kukuruza, zahtevaju analizu velikog i reprezentativnog uzorka za svaku grupu koja čini populaciju, što analizu čini skupom, teškom i dugotrajnom. Upotrebom metode grupnog uzorka (*bulked method*) omogućava se efikasno i ekonomično proučavanje velikog broja individua populacije pomoću SSR markera (Dubreuil et al., 2006). Ovaj metod predstavlja formiranje grupnog uzorka od nekoliko individua (najčešće 30) iz populacije, a koje će predstavljati celu populaciju prilikom SSR analize. Metoda grupnog uzorka uspešno je primenjena u nekoliko studija genetičke raznovrsnosti (Sharma et al., 2010; Warburton et al., 2010; Cömertpay et al., 2012; Bedoya et al., 2017). *Bulked* metod pokazuje dobru pozitivnu korelaciju između rezultata dobijenih na osnovu analize grupnog uzorka i rezultata na osnovu analize određenog broja pojedinačnih individua u populaciji (Reif et al., 2005b).

Veći broj autora navodi da kombinacija fenotipskog i molekularnog pristupa daje najpotpuniju sliku o ispitivanom materijalu. Treba napomenuti da često merenja fenotipskih osobina nisu u saglasnosti sa podacima rezultata istraživanja na molekularnom nivou. (Ristić et al., 2013). Upoređujući RAPD, SSR i morfološke markere Nagy et al. (2003) zaključuju da oba marker sistema samo delimično reflektuju stvarne genetičke odnose između ispitivanih linija kukuruza. Međutim, udružena analiza potpomognuta morfološkim podacima obezbeđuje blisku povezanost između grupa formiranih na dendrogramima klaster analize i podataka o pedigreu. Babić et al. (2012) su poredili genetičke distance fenotipskih i molekularnih markera između 19 inbred linija kukuruza. Zaključili su da postoji srednje jaka korelacija između fenotipskih i molekularnih distanci. Pored postojanja pozitivne linearne zavisnosti između ove dve veličine, ukazano je da postoji znatna disperzija oko linije regresije. To praktično znači da linije istih ili približno istih molekularnih sličnosti mogu ispoljiti različite fenotipske osobine i obrnuto, linije različitih molekularnih sličnosti mogu ispoljiti slične vrednosti fenotipskih osobina. U teoriji kvantitativne genetike ova se pojava može objasniti na dva načina. Pre svega, poznato je da različite kombinacije gena mogu da rezultiraju u isti fenotip. S druge strane, poznato je da usled interlokusne interakcije može doći do pojave veoma različitog fenotipa i u slučaju veoma srodnih roditelja. Prema Matus i Haies (2002) procena genetičke raznovrsnosti može se izvršiti na osnovu nekoliko kriterijuma kao

što su fenotip, pedigree ili koristeći molekularne markere. Jedan pristup ne isključuje drugi, a kombinovani pristup upotpunjuje i daje realniju ocenu oplemenjivačke vrednosti ispitivanog materijala.

3.6. Heterozis – fenomen povećanja prinosa

Prinos hibrida kukuruza još uvek je najznačajnija i najcenjenija osobina kod proizvođača. Ona podrazumeva kompleksnost, povezanost i međuzavisnost različitih komponenata prinosa. Prodanović et al., (1996) posmatraju i definišu prinos kao višedimenzionu pojavu na koju utiče veliki broj faktora. Otkriće heterozisa kod kukuruza početkom 20. veka i stvaranje prvih hibrida dovelo je do prelaska sa gajenja slobodnooprašujućih populacija na gajenje hibrida koji su bili rodniiji (Shull 1908, East 1908). Fenomen heterozisa je definisao Shull (1952) kao „maksimalno stanje heterozigotnosti”, koje se dobija ukrštanjem genetički različitih samooplodnih homozigotnih linija, a ono dovodi do povećane hibridne snage, ili kako je Schnell 1982. godine definisao, kao „nadmoć F1 generacije u odnosu na prosek roditeljskog para”. Heterozis je proučavan pre svega zbog svog ogromnog uticaja na povećanje prinosa, tako da je koncept heterozisa i heterotičnih grupa od suštinskog značaja za teoriju i praksu uzgajanja hibrida. U svim kategorijama ukrštanja, osim u kategoriji linija, heterozis je glavni faktor prinosa (Schnell, 1982). Postoje različite hipoteze o heterozisu, ali se tri mogu svrstati u najpopularnije:

1) Hipoteza dominacije objašnjava heterozis kao zajedničko delovanje multi-lokusa sa poželjnim alelom koji je delimično ili potpuno dominantan (Bruce, 1910; Keeble i Pellew, 1910; Jones, 1917; Collins, 1921).

2) Hipoteza superdominacije predstavlja delovanje superdominantnog gena na više lokusa. (East, 1936; Hull, 1945; Crow, 1948). Crow je pretpostavio da svi poželjni aleli imaju dominantni efekat u odnosu na nepoželjne recesivne alele, smatrajući da je maksimalni vigor jedino moguće postići nakon hibridizacije, kada bi svaki roditelj uneo onaj dominantni alel koji ne poseduje drugi roditelj.

3) Hipoteza epistaze fenomen heterozisa objašnjava preko epistatične interakcije između gena koji se nalaze na različitim alelima (Richey, 1942; Schnell i Cockerham, 1992).

Početna istraživanja vezana za fenomen heterozisa na prostoru Zapadnog Balkana se prema dr M. Rojcu pominju u radu profesora Mandekića, objavljenom u časopisu za oplemenjivanje bilja u Berlinu 1916. godine (Trifunović, 1986). Stoga se može konstatovati da je rad na samooplodnji kukuruza na ovim prostorima započet neposredno pošto je Shull (1909), objavio svoje početne radove o heterozisu.

Heterozis pri ukrštanju dve linije (populacije) zavisi od njihove divergentnosti. Obe linije unose u hibrid poželjne i nepoželjne alele. Ukoliko se na lokusima na kojima su kod jedne linije fiksirani nepoželjni aleli, a u drugoj prisutni samo poželjni aleli (ili obrnuto); onda će parcijalna do kompletna dominantnost poželjnih alela po celoj dužini hromzoma u F1 hibridu dovesti do ispoljavanja isključivo poželjnih alela. Teško je verovati da se ovakav idealan slučaj može postići kombinacijom jednog divergentnog para. Mnogo je verovatnije da se u ovom slučaju lokusi za koje obe populacije nose poželjne, odnosno nepoželjne alele u izvesnom stepenu poklapaju. U ovakvom slučaju postoji jedan broj lokusa za koji oba roditelja nose nepoželjne alele čiji će se efekat ispoljiti i u F1 hibridu.

Pored fenomena kao što je heterozis, koncept kombinacionih sposobnosti i heterotičnih grupa ima nemerljiv značaj u proučavanju i pronalaženju kombinacija koje daju povećanje prinosa.

Postoje različiti koncepti ispitivanja kombinacionih sposobnosti. Ti koncepti imaju za cilj ocenu roditelja na osnovu fenotipskih vrednosti. Sprague i Tatum (1942), vrše podelu kombinacionih sposobnosti na opštu kombinacionu sposobnost (OKS) (prosečna vrednost jednog roditelja u ukrštanju sa drugim roditeljima) i posebnu kombinacionu sposobnost (PKS) (interakcija jednog roditelja u ukrštanju sa drugim roditeljem, a njihova prosečna vrednost odstupa od proseka opštih kombinacionih sposobnosti njih samih). Schmidt (1919) je predložio dialelni metod za određivanje kombinacionih sposobnosti, ukrštanjem inbred linije, sorte ili populacije u svim mogućim kombinacijama. S jedne strane, dialelni metod daje preciznu sliku o oplemenjivačkim

vrednostima ispitivanih genotipova; dok s druge strane, njegov nedostatak se ogleda u velikom broju ukrštanja što dovodi do velikog broja kombinacija, a samim tim zahteva velike površine za ispitivanje i ocenu materijala (Dhillon et al., 1975). Na osnovu ranije publikovanih radova i istraživanja koja je obradio Richey (1922), međupopulacijski hibridi, dobijeni ukrštanjem dve populacije pokazivali su jasnu prednost nad roditeljskim populacijama. Uprkos vrlo jasnim rezultatima ovih istraživanja, odabiranje lokalnih populacija za inbriding vršeno je i dalje gotovo kompletno ignorišući rezultate njihovog ponašanja u međupopulacijskim hibridima.

Kao posledica ovakve selekcije nastao je veliki broj samooplodnih linija čija je kombinaciona sposobnost kasnije morala biti ispitivana upravo dialelnim ukrštanjem. Iz potrebe da se istovremno ispita veliki broj linija Jenkins i Brunson (1932) predlažu *test cross* metod, koji podrazumeva ukrštanje ispitivanog materijala sa jednim testerom široke genetičke osnove. Pataki (2010) navodi da se obim rada može smanjiti za oko 20 puta korišćenjem *test cross* metoda u odnosu na metod dialela. Kako bi se dobila pouzdanija informacija o upotrebnoj vrednosti ispitivanog materijala, Kempthorne (1957) navodi da je potrebno koristiti više testera.

Tek je korišćenje ovog metoda ukazalo na postojanje određenih heterotičnih grupa, odnosno na činjenicu da specifični parovi populacija ili njihove linije ukrštene međusobno daju mnogo veći heterozis od slučajno odabranih parova. Koncept uspostavljanja heterotičnih grupa se u početku razvijao vrlo sporo, a heterotične grupe nisu postojale u početnim fazama razvoja i uzgajanja hibrida (Halauer et al., 1988). Veća genetička udaljenost između sorti nastala je zahvaljujući različitom poreklu i geografskoj izolovanosti i adaptiranosti na različite uslove, te se heterozis ispoljava pri ukrštanju takvih materijala, ali samo do izvesne granice. Prema Moll-u et al. (1965) sa daljim povećanjem divergentnosti heterozis opada. Melchinger i Gumber (1998) definisali su heterotične grupe kao „grupe povezanih ili nepovezanih genotipova iz istih ili različitih populacija, koje pokazuju sličnu kombinacionu sposobnost i heterotični odgovor kada se ukrste sa genotipom iz druge genetički različite germplazme”.

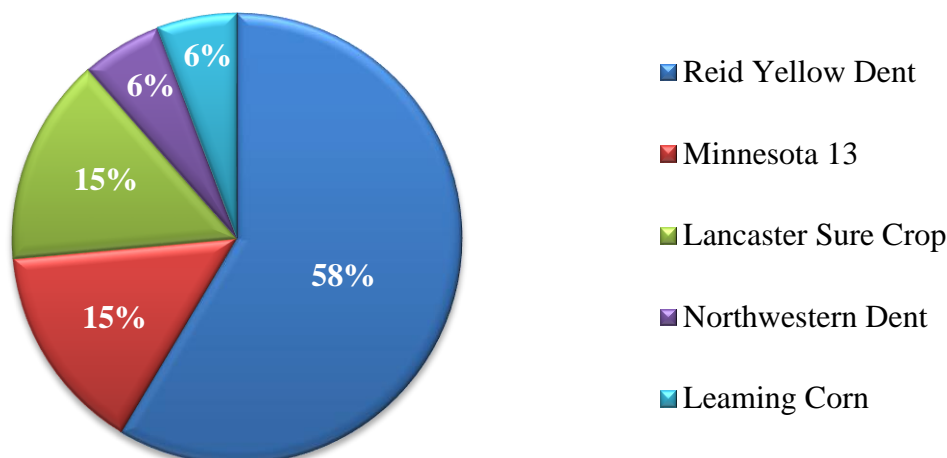
Dakle, sve inbred linije se na osnovu kombinacionih sposobnosti mogu svrstati u heterotične grupe, jer se pri ukrštanju linija različitih heterotičnih grupa postiže stanje heterozisa ili hibridnog vigora. Formiranje i korišćenje heterotičnih grupa kao genetičke osnove (*pool-a*) između kojih postoji potencijalni heterozis, dobijalo je sve veće uporište u selekciji kukuruza. One su dobile veći značaj pojavom komercijalnih *single cross* hibrida u američkom kukuruznom pojasu sredinom 60-tih godina prošlog veka. Prve samooplodne linije koje su korišćene za stvaranje hibrida kukuruza dobijene su samooplodnjom slobodnooprašujućih populacija. Prema navodima Jenkins-a (1936), samooplodnjom 96 različitih populacija dobijeno je 367 samooplodnih linija koje su korišćene u programima stvaranja hibrida.

Vremenom je iz rezultata drugih istraživanja otkriveno da se kombinacijom linija iz populacija *Reid Yellow Dent* i *Lancaster* dobijaju hibridi superiorni u odnosu na hibride nastale kombinovanjem linija iz drugih izvora. Iako to tada još nije bilo jasno, izgleda da je prvi heterotični par populacija u ranim fazama hibridizacije bio *Reid Yellow Dent* × *Lancaster*. Sprague je u prvoj polovini 20. veka formirao sintetičku populaciju *Stiff Stalk Synthetic*, a koja je dobijena od 16 linija najčvršćeg stabla različitih podpopulacija populacije *Reid Yellow Dent* (Sprague, 1946; Lamkey 1992).

Troyer (2004) ističe kao značajno formiranje pet ključnih heterotičnih grupa, a koje su postale osnov modernog oplemenjivanja 30-ih godina prošlog veka: *Reid Yellow Dent*, *Minesotta 13*, *Lancaster Sure Crop*, *North-Western Dent* i *Lemaing Corn*. Takođe, ukazuje i na činjenicu da je 87% američkih hibrida dobijeno ukrštanjem linija koje vode poreklo upravo od svega pet izvornih populacija kukuruza (Grafikon 3).

Danas su najznačajnije tri komercijalne heterotične grupe kod kukuruza: *Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)*, *Lancaster Sure Crop* i *Iodent Reid*. Goodman (1984) navodi postojanje 12 heterotičnih grupa, a da se od 11 u umerenom klimatskom pojasu najčešće koristi kombinacija *BSSS* × *Lancaster*. Kombinacija inbred linija nastalih iz lokalnih populacija × *BSSS* ili *Lancaster* germplazma predstavlja najviše i najčešće korišćen heterotičan par pri pionirskim poduhvatima oplemenjivanja kukuruza i u našoj zemlji. U kasnijem periodu, rad na stvaranju linija iz lokalnih

populacija je zapostavljen, a oplemenjivanje se najčešće zasnivalo na radu sa elitnim materijalom koji je u osnovi imao germplazmu američkih javnih linija.



Grafikon 3. Procentualno učešće heterotičnih grupa (populacija) korišćenih u stvaranju linija američkih hibrida, (Troyer, 2004)

Prema (Ivanović i sar., 1995), heterotični potencijal iz same domaće germplazme nije dovoljno istražen i iskorišćen. Identifikacija drugih heterotičnih modela (parova) treba da doprinese proširenju genetičke osnove germplazme koja se koristi u komercijalne svrhe (Mungoma i Polak, 1988). Svakako se može zaključiti da su heterotične grupe odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju dobijanja hibrida kukuruza što boljih performansi (Reif et al., 2005a; Babić i sar., 2011). Međutim, glavna pitanja koja se postavljaju prilikom formiranja heterotičnih grupa su kako da se identifikuju i utvrde heterotične grupe i koji genotipovi mogu da se koriste kao testeri u procesu ispitivanja heterotičnog potencijala. Virmani (1994) navodi više metoda koje se mogu koristiti za predviđanje heterozisa. On ih svrstava u sledeće grupe: na osnovu performansi roditelja *per se*, na osnovu mitohondrijalne podudarnosti, na osnovu kombinacionih sposobnosti i na osnovu divergentnosti roditelja, bilo da je determinisana preko pedigreea i geografskog porekla, putem molekularnih markera ili morfoloških fenotipskih karakteristika. Stuber (1994) je dao pregled pokušaja da se proteinski i DNK markeri koriste u predviđanju heterotičnog efekta. Postoje nekoliko studija gde su korišćeni različiti markeri. Melchinger et al., (1991) su pomoću RFLP markera utvrdili sličnost između elitnih linija kukuruza i time pokazali značaj DNK markera za grupisanje linija u heterotične grupe. Crossa et al., (1990) su predložili korišćenje kolekcija germplazme kako bi se razvile nove heterotične populacije za recipročnu rekurentnu selekciju, istovremeno u svrhu stvaranja inbred linija, kao i za introgresiju u postojeće heterotične populacije. Kolekcije i/ili njihove izvedene populacije takođe mogu biti unapređene intrapopulacijskim metodama u cilju razvoja superiornih slobodnooprašujućih sorti. Salhuana (1987) je predložio da se uzmu u obzir sledeće osobine prilikom preliminarne procene: rani i krajnji porast, metličenje i svilanje, visina biljke i klipa, polomljene i poglele biljke, broj klipova po biljci, tip endosperma, boja zrna, kvalitet klipa i prinosa. Pored ovih osobina, mogu se pratiti i druge osobine koje se smatraju bitnim za specifične situacije. Isti autor naglašava važnost izbora testera za testiranje. Prvi razlog koji navodi jeste da prinos genotipa *per se* ukazuje na nivo prisutnosti poželjenih gena, ali s druge strane, procena kroz ukrštanja ukazuje na učešće novih poželjnih gena. Drugi razlog je što neaditivno delovanje gena može da bude značajno. Treći razlog odnosi se na omogućavanje procene adaptacije, koja je potrebna da bi se napravilo odgovarajuće poređenje, i kao četvrto da bi se ustanovio novi heterotični izvor.

Još uvek nije utvrđen način delovanja gena na formiranje prinosa i različite kvantitativne osobine. Međutim, statističkim analizama kombinacionih sposobnosti može se spoznati i proceniti vrednost nepoznatog materijala koji je od značaja za stvaranje novih populacija, od ranije ispitivanog materijala ili egzotične germplazme. Kada je u pitanju odnos OKS/PKS, veća važnost

varijanse OKS (aditivno delovanje gena) je kod još uvek neselekcionisanog materijala, međutim, varijansa PKS (dominantno i epistatično delovanje gena) je važnija kod selekcionisanih inbred linija zbog ostvarivanja većeg heterozisa između čistih inbred linija. (Čamdžija, 2014).

Crossa et al. (1990) su zaključili da u Severnoj, Centralnoj i Južnoj Americi postoji ogroman i neiskorišćen genetički diverzitet kukuruza, koji je nastao kao rezultat dugogodišnje evolucije kroz domestikaciju i hibridizaciju. Oni predlažu veću upotrebu materijala iz banaka gena za stvaranje populacija različitih heterotičnih osnova za recipročnu rekurentnu selekciju.

Duvick (2005) preporučuje i smatra da je nužno stvaranje i osmišljavanje novih ili nastavak postojećih programa unutar pre-bridginga da bi se izvršila evaluacija oplemenjivačkih vrednosti lokalnih populacija, sa ciljem pronalaženja kompleksnijih osobina, pogotovo komponenata prinosa. Samo nekoliko istraživanja bavilo se upoređivanjem malog broja populacija tvrduca, a koje su bile ocenjivane na osnovu njihove kombinacione sposobnosti sa testerima različitih heterotičnih grupa, kako bi se analizirali glavni efekti i efekti interakcije lokalnih populacija i testera u određenim uslovima (Soengas et al., 2003, 2006). Većina hibridnih oplemenjivačkih programa kukuruza unutar kukuruznog pojasa zubana (*Corn Belt Dent*) koristi heterotične parove *Stiff Stalk*, ali i one koji nisu *Stiff Stalk*. Kukuruz je iz ovog pojasa već prošao kroz mnogobrojne cikluse selekcije, uglavnom usmerenih ka povećanju prinosa (Bertoia et al., 2006). S druge strane, Böhm et al. (2015) preporučuju utvrđivanje potencijala lokalnih populacija za proširenje postojećih heterotičnih grupa evaluacijom njihovih *test cross* performansi u kombinaciji sa jednim ili dva elitna testera suprotnih heterotičnih osnova. Zbog ograničene genetičke osnove komercijalnih hibrida, sve interesantnije postaje upotreba germplazme lokalnih populacija za pronalaženje alternativnih heterotičnih parova (Vančetović et al., 2015a).

Stoga, vrlo je važno steći informacije o heterotičnim parovima i njihovom potencijalu pre uključivanja materijala iz banke gena u komercijalne oplemenjivačke programe. Iz ovog razloga, mnoga istraživanja fokusirana su na grupisanje lokalnih populacija u heterotične grupe, kao i identifikovanje mogućih heterotičnih parova među njima (Malvar et al., 2005; Revilla et al., 2006). Vančetović et al. (2015b) ističu važnost početne vrednosti populacije za oplemenjivanje, gde je krajnji cilj F1 hibrid, te da pored posedovanja dobrih *per se* karakteristika, početna vrednost populacije zavisi i od sposobnosti ukrštanja tj. kombinovanja sa drugim populacijama, grupama populacija ili inbred linija.

IV

RADNA HIPOTEZA

Polazne hipoteze pri postavljanju ovih istraživanja su sledeće:

- Između lokalnih populacija, koje su odabrane za istraživanja i čuvaju se u banci gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje“, očekuje se da postoji značajna razlika u karakteristikama populacija *per se*. Takođe je za očekivati postojanje značajne varijabilnosti prinosa i drugih agronomskih osobina između populacija, s obzirom da su one kolekcionisane iz različitih agroekoloških uslova i pripadaju divergentnim grupama, na osnovu karakterizacije po UPOV-om deskriptoru. Polazna hipoteza je da postoje značajne razlike u opštoj kombinacionoj sposobnosti između lokalnih populacija, kako bi se mogli izdvojiti najbolji opšti kombinatori.

- Pošlo se od pretpostavke da je u istraživanju obuhvaćena varijabilnost komercijalnog gen-pula kukuruza odabirom tri elitna testera, koji pripadaju divergentnim i najčešće korišćenim heterotičnim grupama. Za očekivati je da se na osnovu test ukrštanja mogu izdvojiti posebne hibridne kombinacije koje ispoljavaju visok heterozis za prinos zrna i izvršiti grupisanje lokalnih populacija u heterotične grupe.

- Molekularna karakterizacija bi omogućila procenu genetičke sličnosti i divergencije odabranih lokalnih populacija, kako međusobno, tako i u odnosu na testere poznatog pedigreea. Pretpostavlja se da će neki od primenjenih mikrosatelitskih markera jasnije od drugih omogućiti razlikovanje lokalnih populacija kukuruza.

- Za očekivati je da će lokalne populacije veće genetičke divergentnosti ispoljiti viši stepen heterozisa.

- Fenotipska i molekularna karakterizacija, odnosno kombinovanje rezultata dobijenih iz poljskih ogleda i rezultata molekularne analize pri proceni oplemenjivačke vrednosti lokalnih populacija, polazna je osnova za donošenje odluka o načinu korišćenja ispitivanog materijala u daljem programu predoplemenjivanja i njegovoj introgresiji u komercijalni oplemenjivački materijal.

V

MATERIJAL I METODE

5.1. Biljni materijal

5.1.1. Odabir ispitivanog biljnog materijala

Veliki broj uzoraka koji se čuva u bankama biljnih gena jedan je od razloga koji onemogućava njihovo efikasno korišćenje. Za proces komercijalnog oplemenjivanja kukuruza informacija o heterotičnom modelu je veoma važna. Testiranje celokupne kolekcije lokalnih populacija sa područja Zapadnog Balkana (2217 uzoraka), banke gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje” je praktično veoma zahtevno. Stoga je predložena šema predoplemenjivačkog procesa, u okviru kojeg su se iskoristila neka prethodna istraživanja koja su obuhvatala celokupnu kolekciju, da bi se došlo do prihvatljivog broja lokalnih populacija za ispitivanje njihovog heterotičnog potencijala (Slika 4).

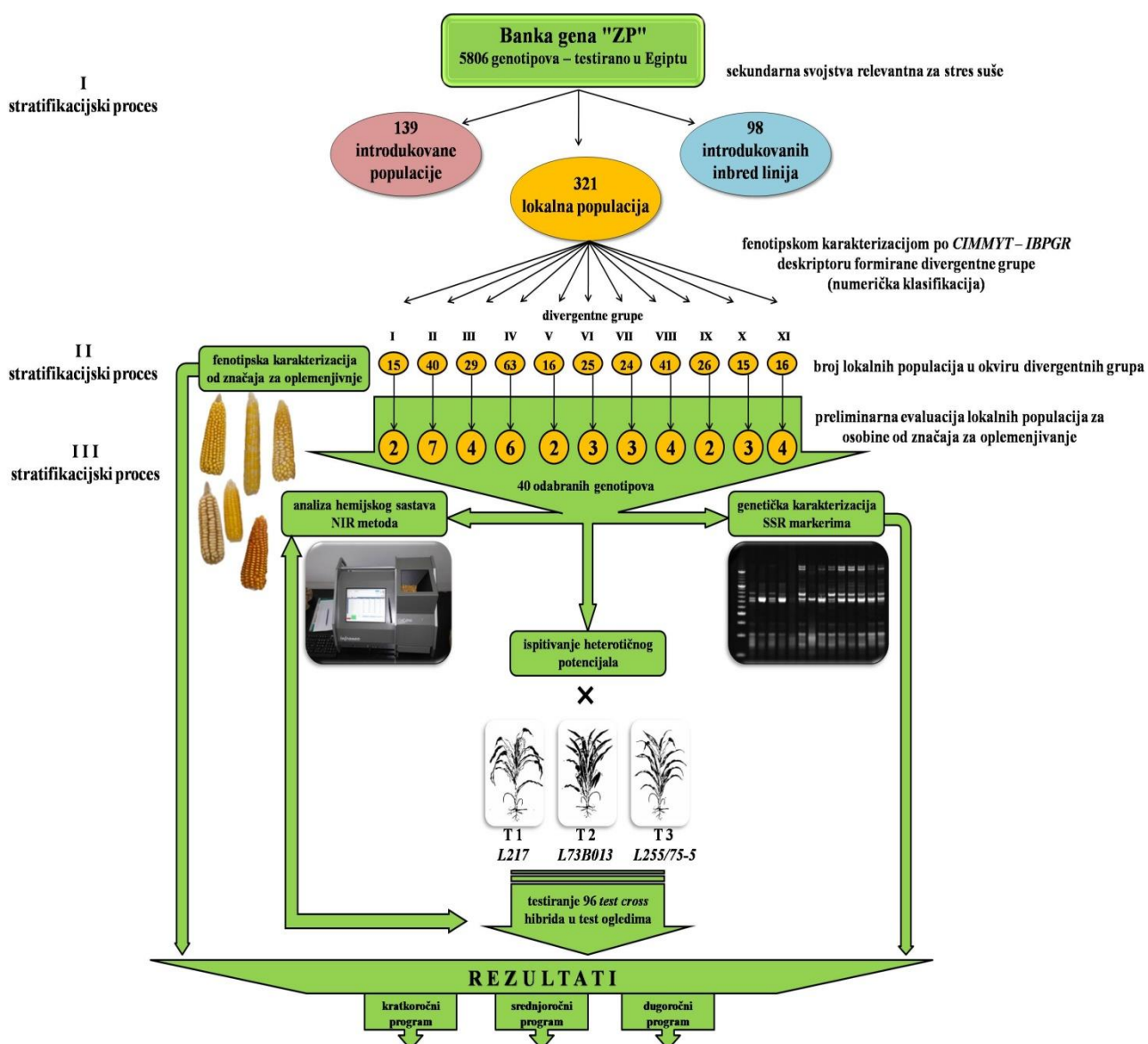
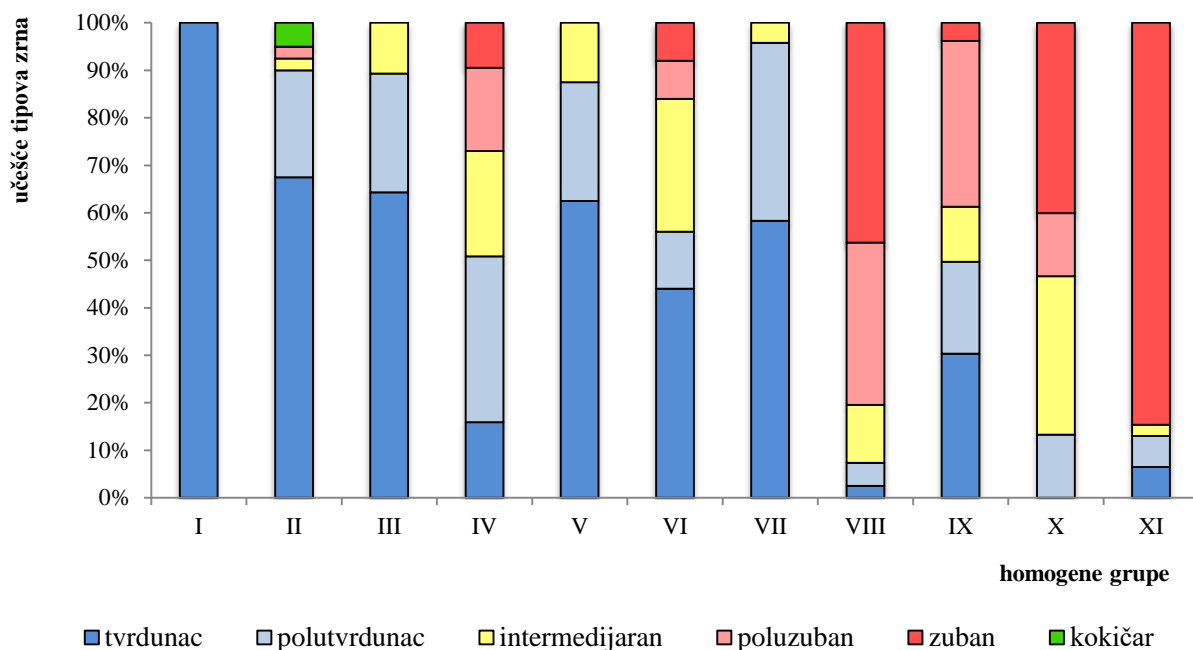


Photo by: MRIZP - A. Popović & V. Babić © copyright

Slika 4. Šema predoplemenjivačkog procesa

U okviru ispitivanja celokupne kolekcije Banke gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje” na stres suše, pored ostalog, izdvojila se 321 lokalna populacija, kao mogući izvor tolerantnosti (Babić et al., 2012). Kako je i ovaj broj bio veliki za ukrštanja u postavljanju ogleda u kojima bi se ispitao njihov heterotični potencijal pristupilo se grupisanju populacija u homogene grupe na osnovu podataka njihove fenotipske karakterizacije po CIMMIT/IBPGR deskriptoru za kukuruz (IBPGR, 1991; CIMMYT, 2009). Karakterizacija i klasifikacija detaljno su predstavljene u radu Babić et al. (2015). Uz primenu nehijerarhijskih (dvostepena klaster analiza, diskriminaciona analiza, korespondentna analiza) i hijerarhijskih (hijerarhijska klaster analiza) statističkih modela, izvršeno je grupisanje populacija u 11 homogenih grupa.

U drugoj fazi stratifikacijskog odabira urađena je karakterizacija populacija na osobine od značaja za oplemenjivanje: vreme cvetanja (30 i 50% biljaka), visina biljke do vrha metlice, visina gornjeg klipa, tip zrna, opšta ocena klipa, intenzitet zelene boje lista, procenat poleglih i slomljenih biljaka i prinos zrna (Popović, 2013; Popović et al., 2020). Populacije različitih homogenih grupa su se pre svega razlikovale po dužini vegetacionog perioda, ali i tipu zrna (Grafikon 4). Prva grupa sačinjena je isključivo od populacija tvrdunaca pretežno poreklom iz Crne Gore, sa lokaliteta većih nadmorskih visina, kao i primorskog dela Hrvatske. Neki uzorci kolekcionisani su na lokalitetima na nadmorskim visinama i većim od 1000 metara. Očigledno je da su se ove populacije gajile na dosta izolovanim poljima i nisu imale mogućnost da se mešaju sa drugim populacijama kukuruza. Stoga je moguće da su se održale u veoma sličnoj konstituciji još od vremena introdukcije. U populacijama druge i treće grupe preovladavaju tvrdunci i polutvrdunci (90 i 89%, respektivno), veoma su slični tvrduncima prve grupe uz neznatnu primesu intermedijarnih (prelaznih) tipova i poluzubana. U drugoj grupi nalazi se i jedan broj kokičara pretežno poreklom sa Kosova. Populacije druge grupe, pretežno vode poreklo iz Crne Gore, Kosova i Makedonije sa nadmorskih visina oko 650 m. Treću grupu čini 28 populacija poreklom iz severnog i istočnog dela Crne Gore, Kosova i Metohije, Bosne i Hercegovine. Kod druge i treće grupe populacija je očigledno došlo do manjeg ukrštanja populacija tvrdunaca sa populacijama zubana čija se germplazma zadržala u manjem stepenu u ovim populacijama. Očigledno je mešanje sa nekom drugom germplazmom omogućilo uspešnije širenje kukuruza, što potvrđuje veći broj kolekcionisanih uzoraka iz ove dve grupe. U četvrtoj, petoj, šestoj i sedmoj grupi takođe preovlađuju tvrdunci i polutvrdunci, uz prisustvo intermedijarnih tipova, a u četvrtoj i šestoj grupi zabeležen je i određen procenat tipova zrna poluzubana i zubana. Tvrdunci ovih grupa, posebno u grupi sedam, se razlikuju od tvrdunaca iz prve tri grupe. To su tvrdunci srednje ranog vegetacionog perioda i robusnijih biljaka (veće visine, šireg lista i dužeg klipa). Populacije iz grupe četiri (63 populacije), pet (16 populacija) i šest (25 populacija), su sakupljene u brdskim područjima, na nadmorskim visinama od 445 do 473 mnv. Grupu sedam čine 24 populacije kolekcionisane najčešće u BIH, ali i na pojedinim lokalitetima severa Crne Gore i nekih ostrva Hrvatske. Populacije osme grupe (njih 41) pretežno vode poreklo iz Srbije, ali i BIH (područje opštine Ključ). Preovlađuju tipovi zubana i poluzubana (zajedno 80,2%), 12,2% intermedijarnih tipova, uz neznatan procenat tvrdunaca i polutvrdunaca. Ove populacije su se najčešće gajile duž reke Morave i verovatno vode poreklo od nešto kasnijeg četvrtog talasa introdukcija zubana američkog kukuruznog pojasa krajem XIX veka, uz neznatnu primesu nešto tvrđeg zrna kod ovih genotipova, verovatno nastalih ukrštanjem sa već postojećim tvrduncima (Babić et al., 2012). Deveta grupa (njih 26) obuhvata populacije iz Slovenije, Hrvatske, BIH i Srbije, sa lokaliteta od oko 400-450 mnv. Ova grupa sadrži 50% tipova tvrdunaca i polutvrdunaca, 11,5% intermedijarnih tipova i 38,4% poluzubana i zubana. U desetoj grupi preovlađuju tipovi zubana i poluzubana (zajedno 53,3%), uz veliki procenat intermedijarnih tipova (33,3%). Sakupljene su pretežno u dolinama reka i na malim nadmorskim visinama. Zastupljene su u svim agro-ekološkim regionima bivše Jugoslavije. Populacije jedanaeste grupe (16 populacija) pretežno su sakupljene u ravničarskim predelima Srbije (Vojvodina) i Hrvatske, a čine ih populacije zubana, koje su morfološki najbližnje zubanima Južne Amerike.



Grafikon 4. Udeo populacija različitih tipova zrna po homogenim grupama

Posmatrajući prosečan prinos jedanaest grupa može se zaključiti da su prve tri homogene grupe nižeg prinosa i sličnih morfoloških karakteristika. One predstavljaju rani materijal, uglavnom tvrđunce žuto-narandžaste boje zrna. Homogene grupe četiri, pet, šest, sedam i devet su postigle približno isti prinos, koji se kretao od 3,588 do 3,957 t/ha. Populacije iz grupe osam, deset i jedanaest u kojima preovlađuju zubani dužeg vegetacionog perioda i njihovi intermedijarni tipovi, postižu nešto veće prinose (preko 4,5 t/ha) (Popović, 2013).

Vrednost početne populacije za selekciju, čiji je krajnji proizvod hibrid, pored osobina *per se*, zavisi i od kombinacione sposobnosti te populacije sa drugom populacijom, grupom populacija ili linijom, a koja će u procesu hibridizacije služiti kao drugi roditelj (Vančetović et al., 2015b). Planirano je da se odabrani najrepresentativniji predstavnici iz svake od 11 homogenih grupa, ukrste sa elitnim komercijalnim testerima kako bi se definisala pripadnost heterotičnim grupama. U istim uslovima spoljašnje sredine, zajedno sa karakterizacijom populacija, ocenilo se vreme cvetanja pet komercijalnih testera: L217 (*Iowa Dent*), L73B013 (*BSSS × Iowa Dent*), L225/75-5 (*Lancaster germplasm*), F2 i Polj17.

Na osnovu praćenih parametara, konačan odabir populacija za ispitivanje njihove heterotične pripadnosti je vršen po principu ekspresije najvećeg broja praćenih poželjnih osobina populacija *per se*. Pri izboru početnog materijala, adaptiranog na uslove u kojima se ispituje, važan je visok prosečan poželjnih osobina koji obezbeđuje veće šanse za dobijanje superiornih linija direktnom selekcijom (samooplodnjom) iz populacije što omogućava manji broj ciklusa selekcije za dostizanje željenog nivoa osobine u okviru populacije (Gorjanc et al., 2016). U ovoj evaluaciji, prednost su imale populacije sa malim vrednostima za *ASI* (eng. - *anthesis-silking interval*), nisko pozicioniranim klipom, dobrim prinosom *per se*, tamno zelenom bojom listova, malim brojem pogleh i slomljenih biljaka, kao i dobrom opštom ocenom klipa.

U skladu sa zadatim ciljevima, odabrano je 40 populacija (10-15% iz svake grupe) i to: dve, sedam, tri, sedam, dve, tri, tri, četiri, dve, tri, četiri populacije po grupama od I-XI, respektivno (Tabela 1). Pretpostavljeno je da će se proporcionalnim odabirom reprezentativnih predstavnika svih jedanaest grupa, ravnomerno obuhvatiti raspoloživa varijabilnost celokupne genetičke osnove (eng. - *gene pool-a*) koju je sačinjavalo 310 lokalnih populacija Zapadnog Balkana.

Tabela 1. Osnovni pasoški podaci i ispitivani parametri odabranih 40 lokalnih populacija Zapadnog Balkana za ukrštanje sa tri testera (Popović, 2013)

HG	MB	ZK	NV	Vb	Vk	Vk/Vb	PiSb	Prinos	OOk	OBl	Tzr
				(cm)	(cm)	(%)		(t ha ⁻¹)			
1	1869	HR	850	147	30	20,47	5	3,46	2	3	1
	1890	HR	600	147	41	27,68	4	4,27	3	2	1
2	594	MAK	661	175	62	35,62	1	3,04	2	2	1
	773	SRB	500	188	52	27,74	2	4,23	3	3	1
	1185	CG	215	160	38	23,59	3	3,45	3	3	1
	589	MAK	661	168	56	33,02	2	2,39	3	1	1
	1379	BIH	650	169	44	26,42	6	2,12	2	1	1
	1381	BIH	700	190	53	28,33	5	4,50	3	2	2
	1267	CG	500	202	54	27,07	0	4,53	2	2	3
3	13	CG	900	174	54	31,23	3	3,14	3	3	1
	467	BIH	500	159	34	21,19	2	3,68	3	3	1
	144	SRB	900	181	67	36,81	1	4,39	3	2	1
4	871	MAK	105	164	43	26,30	3	3,55	3	3	2
	1960	BIH	750	178	46	25,83	4	4,84	2	3	3
	1276	CG	800	195	57	29,28	3	4,97	2	3	5
	846	BIH	700	182	48	26,32	10	3,35	3	3	3
	1384	BIH	650	185	50	27,07	7	3,99	3	3	3
	2144	HR	620	175	45	25,77	3	3,41	3	2	1
	1534	SRB	174	197	68	34,51	1	5,44	3	3	1
5	642	SRB	533	184	45	24,77	4	4,29	2	3	1
	1798	SRB	550	195	70	35,76	0	5,36	3	2	3
6	1895	HR	500	181	56	30,53	3	5,14	3	2	1
	2033	HR	50	198	71	35,80	2	5,47	3	3	3
	2006	BIH	800	206	81	39,37	3	5,48	3	2	1
7	2230	BIH	700	189	53	28,14	2	4,84	3	3	2
	2236	BIH	750	205	59	28,87	2	4,20	3	3	2
	2176	SLO	620	210	55	26,28	4	4,19	3	1	1
8	2249	BIH	800	230	90	39,08	2	7,74	3	2	5
	2036	BIH	800	205	72	34,54	3	5,48	3	2	4
	1665	MAK	700	218	91	41,90	0	5,79	3	2	4
	632	SRB	400	220	94	43,19	4	5,34	2	2	5
9	1945	BIH	700	204	72	35,02	5	4,45	3	3	1
	2047	HR	180	209	88	42,27	3	4,69	2	1	4
10	1346	MNE	200	225	80	35,60	6	5,88	3	3	5
	877	BIH	41	206	68	33,18	1	5,36	3	3	3
	1569	SLO	103	261	121	46,23	3	5,52	3	3	5
11	197	SLO	200	213	77	36,03	1	4,65	3	3	5
	288	SRB	80	221	85	38,32	3	5,23	3	1	5
	1509	SLO	200	216	87	40,07	5	6,92	3	3	5
	1450	HR	300	233	98	41,69	8	5,73	3	3	5

Legenda: HG – homogena grupa, MB – matični broj populacije u kolekciji, ZK – zemlja kolekcionisanja, NV – nadmorska visina, Vb – visina biljke (cm), Vk – visina gornjeg klipa (cm), Vk/Vb – odnos visine biljke i visine klipa (%), PiSb – polegle i slomljene biljke, OOk – opšta ocena klipa, OBl – ocena boje lista, Tzr – tip zrna

Tabela 2. Srednje vrednosti morfoloških karateristika 31 ispitivane populacije Zapadnog Balkana *per se* za pojedine osobine (Izvor: Baze podataka Banke gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje”)

R.b.	MB	Osobine lokalnih populacija <i>per se</i>									
		DI	ŠI	BI	Dk	Pk	Po	Dz	Br	Bz	Ms
1.	1890	57,73	7,47	4,17	11,75	3,64	1,95	0,85	12,20	21,25	276
2.	2144	68,03	8,21	4,31	16,09	3,78	2,26	0,76	11,09	29,50	360
3.	467	57,79	7,30	4,96	9,80	3,15	1,65	0,75	12,60	24,77	210
4.	1960	50,56	9,07	5,07	14,06	4,15	2,20	0,98	11,41	28,65	362
5.	13	57,87	7,47	5,90	9,50	3,25	1,79	0,73	15,20	21,83	183
6.	1895	61,90	8,40	4,67	16,92	3,85	2,19	0,83	13,00	32,78	265
7.	1267	59,43	7,53	4,37	14,96	3,67	1,91	0,88	10,29	30,46	245
8.	1276	65,73	8,33	4,97	14,30	4,06	1,95	1,06	9,80	30,00	428
9.	773	67,82	7,27	4,86	13,83	3,54	2,03	0,76	12,33	27,38	273
10.	1384	75,87	7,97	4,80	16,02	3,74	2,22	0,76	10,52	31,24	362
11.	594	69,72	8,00	4,12	14,00	3,81	2,47	0,67	14,83	28,46	227
12.	871	56,57	9,00	4,83	15,29	3,71	2,34	0,69	11,88	29,06	278
13.	846	67,20	7,62	5,33	15,25	3,72	1,96	0,88	9,60	34,20	340
14.	642	62,08	9,56	5,24	13,50	3,65	2,14	0,75	11,00	28,13	307
15.	1798	76,00	8,24	5,15	16,64	3,85	2,16	0,85	11,11	32,72	330
16.	2033	79,43	9,02	4,67	13,96	3,93	2,28	0,83	13,67	28,79	278
17.	2006	70,73	7,72	5,03	15,72	3,79	1,99	0,90	14,43	36,52	246
18.	2036	72,20	8,82	5,57	17,46	4,11	2,26	0,92	13,65	36,41	324
19.	1945	73,73	9,13	5,43	15,79	4,11	2,32	0,90	13,37	34,53	288
20.	1346	77,23	9,17	5,37	15,83	4,44	2,27	1,08	11,41	37,59	420
21.	1665	79,19	8,46	5,81	15,24	4,38	2,42	0,98	13,62	36,12	340
22.	1509	72,20	9,34	5,76	16,18	4,79	2,66	1,06	15,43	35,93	322
23.	1534	73,17	9,22	5,57	15,00	3,99	2,19	0,90	10,56	31,08	420
24.	2249	86,27	8,72	5,47	18,11	4,50	2,40	1,05	14,27	41,57	360
25.	2047	78,00	9,52	5,64	17,44	4,26	2,34	0,96	12,38	41,59	356
26.	1450	79,93	9,07	5,80	15,50	4,80	2,58	1,11	14,76	34,02	340
27.	632	79,08	9,52	5,00	18,57	4,57	2,50	1,03	15,13	43,24	310
28.	877	67,34	9,14	5,79	18,00	3,97	2,16	0,91	11,78	40,72	352
29.	197	72,56	9,00	6,04	17,97	4,23	2,53	0,85	13,73	33,70	342
30.	288	77,77	9,50	5,83	15,66	4,68	2,38	1,15	16,27	37,43	314
31.	1569	89,57	10,52	7,27	22,86	4,24	2,22	1,01	11,92	42,16	404

Legenda: R.b. – redni broj, MB – matični broj populacije u kolekciji, DI – dužina lista (cm), ŠI – širina lista (cm), BI – broj listova iznad klipa, Dk – dužina klipa, Pk – prečnik klipa, Po – prečnik oklaska, Dz – dubina zrna, Br – broj redova zrna, Bz – broj zrna u redu, Ms – masa 1000 semena

U ovoj fazi odabrana su 3 divergentna testera za ukrštanja sa odabranim populacijama: L217 pripada heterotičnoj osnovi *Iowa Dent*, L73B013 pripada *BSSS* × *Iowa Dent* heterotičnoj osnovi i L255/75-5 *Lancaster* heterotičnoj osnovi (Tabela 3). Usled vrlo slabih agronomskih osobina kao što su loš razvoj metlica, abortivnost i mala količina polena testeru ranih linija F2 i Polj17 su bili isključeni iz ukrštanja, ali ne i iz molekularnih ispitivanja. Linija F2 poreklom je iz Francuske, a pripada nezavisnoj heterotičnoj osnovi evropskog tvrduca (*eng. - Europe flint*), dok je linija Polj17, u tipu zubana, nastala pedigre selekcijom u Zemun Polju iz linije S61 koja je poreklom iz Smonica (Poljska). Linije F2 i Polj17 su opozitne, komponente su ranog trolinijskog hibrida

ZP196 \rightarrow (♀ Polj 17 \times ♂ K1) \times ♂ F2 i predstavljaju dobar heterotičan par (Filipović, M., lična komunikacija).

Tabela 3. Osnovni podaci i ispitivani parametri odabrana tri elitna testera (Popović, 2013)

Nazivi linije	Heterotična grupa	Vb (cm)	Vk (cm)	Vk/Vb (%)	PiSb	Prinos (t/ha)	OOK	OBI	Tzr	ASI
L217	<i>Iowa Dent</i>	182	57	31,32	0	3,20	3	3	5	1
L73B013	<i>BSSS \times ID</i>	174	60	34,48	0	3,85	3	3	4	0
L255/75-5	<i>Lancaster</i>	178	58	32,58	1	2,96	3	2	4	1

Legenda: **Vb** – visina biljke (cm), **Vk** – visina gornjeg klipa (cm), **Vk/Vb** – odnos visine biljke i visine klipa (%), **PiSb** – polegle i slomljene biljke, **OOK** – opšta ocena klipa, **OBI** – ocena boje lista, **Tzr** – tip zrna

5.1.2. Ukrštanje materijala i stvaranje *test cross* hibrida

Odabranih 40 lokalnih populacija su sejane 2014. godine na oglednom polju Instituta za kukuruz „Zemun Polje” po grupama zrenja od najranijih do najkasnijih sa ciljem ukrštanja sa tri odabrana testera u tehničkoj izolaciji. Setva je obavljena ručno u tri bloka (po testeru), a svaka populacija je sejana u dva reda od po 10 kućica. U svaku kućicu se sejalo po četiri zrna, uz kasnije proređivanje na dve biljke po kućici. Testeri su sejani iznad populacija u 4 kućice po dve biljke.



Slika 5. Proces rada prilikom stvaranja *test cross* hibrida
a) setva, b) proređivanje, c) oprašivanje i d) berba kukuruza

Na osnovu podataka (broj dana do nicanja, broj dana do metličanja i broj dana do svilanja) iz prethodne faze ispitivanja, načinjen je plan vremenske setve materijala predviđenog za ukrštanje.

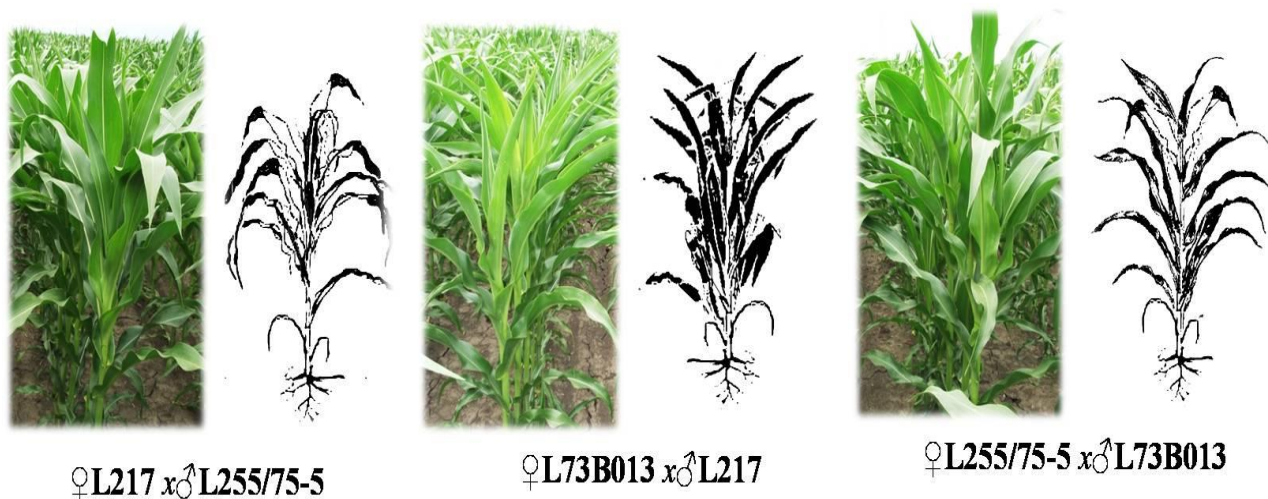
Ukupno su određene i obavljene 4 vremenske setve:

- 0 vremenska setva – izvršena 23.04.2014.
- I vremenska setva – izvršena 03.05.2014.
- II vremenska setva – izvršena 11.05.2014.
- III vremenska setva – izvršena 20.05.2014.

Setva je trajala 27 dana od prvih do poslednje zasejanih genotipova. U periodu oplodnje junjul, izvršeno je ukrštanje. U vreme berbe izvršena je berba klipova pod kesama. Smatrano je da je ukrštanje uspešno ukoliko se dobilo najmanje 15 klipova po populaciji. Trideset jedna populacija je uspešno ukrštena sa sva tri testera. Zbog prevelike razlike između metličanja i svilanja materijala, kao i na osnovu dobijenog broja klipova u ukrštanjima sa sva tri testera, ukrštanja devet populacija (MB1869, MB1185, MB589, MB1379, MB1381, MB144, MB2230, MB2236, MB2176) nisu zadovoljila postavljene kriterijume. Ukrštanje nije uspelo ni u zimskoj generaciji. Na taj način je dobijeno 93 *test cross* hibrida za ispitivanje heterotičnog potencijala u test oglelima. Takođe, linije (testeri) su ukršteni međusobno i dobijeno je seme F1 hibrida koji su poslužili kao standardi u oglelima koji su izvedeni 2015. i 2016. godine (Slika 6). Dobijeni klipovi su okrunjeni ručno, uzimana je podjednaka količina zrna sa svakog klipa, zrno je osušeno na 14% vlage, provejano i prebrano, te izmerena njegova masa kao i broj zrna radi daljeg planiranja oglada. Tako doručeno seme je upakovano i tokom zime čuvano u hladnoj komori u uslovima srednjoročnog čuvanja ($t=4-5^{\circ}\text{C}$; $\text{RH}=45-50\%$).

5.2. Parametri poljskih oglada *test cross* hibrida

Dobijeni *test cross* hibridi su testirani u dve godine (2015-2016) u uslovima suvog ratarenja, na četiri lokacije: Zemun Polje (geografske širine $\text{N}44^{\circ}51'$ i geografske dužine $\text{E}20^{\circ}18'$, na nadmorskoj visini od 73 m), Pančevo (geografske širine $\text{N}44^{\circ}88'$ i geografske dužine $\text{E}20^{\circ}77'$, na nadmorskoj visini od 78 m), Sremska Mitrovica (geografske širine $\text{N}45^{\circ}02'$ i geografske dužine $\text{E}19^{\circ}64'$, na nadmorskoj visini od 88 m) i Bečej ($\text{N}45^{\circ}69'$ i geografske dužine $\text{E}19^{\circ}91'$, na nadmorskoj visini od 80 m) i dva ponavljanja po parcijalno balansiranom uravnoteženom nepotpunom blok dizajnu (*PBIB - partially balanced incomplete block design*; Ghosh i Divecha, 1997) sa četiri bloka unutar svakog ponavljanja. Svaki blok sadrži po 24 hibrida, odnosno 96 hibrida u jednoj grupi blokova (jednom ponavljanju) (Slika 7).

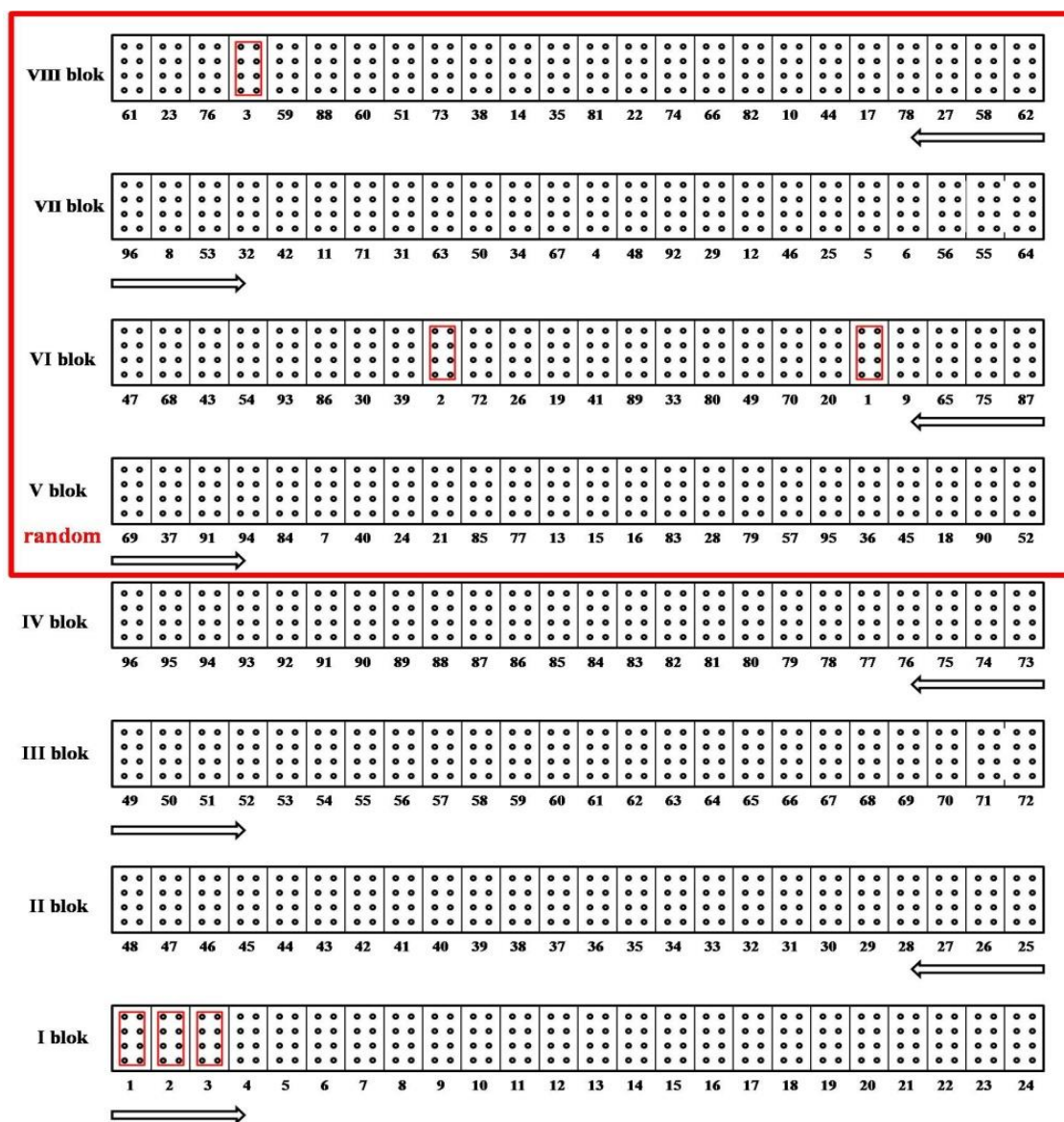


Slika 6. Fotografije hibrida - standarda iz oglada za ispitivanje *test cross* hibrida i njihov grafički prikaz

Hibridi su sejani u dva reda na elementarnoj parceli površine $7,5 \text{ m}^2$. Gustina useva je iznosila 66700 biljaka po hektaru. U Tabeli 4, detaljno su prikazani elementi oglada. Oglad je sejan *Wintersteiger* mašinskom sejalicom, koja je namenjena za setvu oglada.

Tabela 4. Elementi oglada i određeni parametri

Redni broj	Elementi oglada	Parametri
1.	Broj hibrida u ogledu	96
2.	Gustina (broj biljaka u redu)	25
3.	Dužina osnovne parcele (m)	5
4.	Broj redova u parceli (po genotipu)	2
5.	Razmak zrna u redu (cm)	20
6.	Razmak red od reda (cm)	75
7.	Broj biljaka na parceli	(2 reda × 25 zrna)
8.	Površina osnovne parcele (m ²)	7,5
9.	Broj ponavljanja	2
10.	Broj lokacija	4
11.	Dužina staze između ponavljanja (m)	1
12.	Ukupna dužina oglada (m)	47
13.	Ukupna širina oglada (m)	36
14.	Ukupna površina oglada (m ²) po lokaciji	1692

Slika 7. Plan setve oglada *test cross* hibrida po lokacijama za dve godine

5.2.1. Agrotehnički uslovi i primenjene mere na ispitivanim lokalitetima

U strategiji zaštite životne sredine Evrope postoji odgovarajuća stratifikacija evropskog biogeofizičkog okruženja (*EnS - Environmental Stratification*) (Metzger et. al., 2013). Prema toj stratifikaciji zaštite životne sredine, lokacije na kojima su izvedeni ogledi pripadaju Panonskoj 3 (PAN3) zoni, unutar tople i umerene kontinentalne klime; u kojoj srednja vegetacijska sezona traje 252 dana (Metzger et. al., 2012).

Ogledne parcele na lokacijama Zemun Polje, Sremska Mitrovica i Bečej bile su na humusno-akumulativnom zemljištu tipa černozema, razvijenom na lesnoj podlozi sa veoma dobrom poroznošću, vazдушnim, toplotnim i vodnim režimom visoke proizvodne vrednosti. Izuzetno fine mrvičasto-orašaste strukture. Ovo su visoko karbonatna zemljišta sa većim zalihama fosfora, kalijuma, azota i humusa (na dubini 0 – 20 cm humus u černozemu varira od 3,5 do 4,5%). Ogledne parcele na lokaciji Pančevo bile su na tipu peskovitog černozema, koji se odlikuje većom poroznošću i peskovitošću, što ga čini manje produktivnim. Peskoviti černozem je karakterističan najviše za južnobanatsku lesnu zaravan (Tabela 5). Sva ova zemljišta se odlikuju profilom: Ah-AhC-C tipa, koji se sastoji iz Ah horizonta tamno zrnaste ilovače, AhC horizonta mrke boje i nešto krupnijih zrnastih stuktturnih agregata koji se nalaze u dubljim slojevima profila. Odlikuje se visokom poroznošću i koncentracijama neorganskih soli tipa CaCO₃ (kalcijum karbonat) nerastvorljivih u H₂O (vodi). C horizont predstavlja geološki supstrat karbonata svetlo-smeđe boje na kome je nastao černozem (Tabela 5).

Tabela 5. Podaci zasnivanja/berbe ogleda i glavne karakteristike zemljišta na kojima su postavljeni ogledi

	Zemun Polje		Pančevo		S. Mitrovica		Bečej	
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Datum setve	17. Apr	14. Apr	06. Apr	04. Apr	10. Apr	12. Apr	15. Apr	16. Apr
Datum berbe	15. Sep	24. Sep	10. Sep	18. Sep	27. Sep	02. Okt	30. Sep	07. Okt
Tip zemljišta	Slabo karbonatni černozem		Peskoviti černozem		Karbonatni černozem			
Humusno-Akumulativni horizont	Zemljišni profil: Ah-AhC-C							
pH u H ₂ O	7,45		7,60		7,80		7,85	
pH uKCl	6,95		7,00		7,10		7,15	
Ukupno N %	0,25		0,23		0,27		0,30	
P ₂ O ₅ mg/100g	14,50		12,00		19,00		22,00	
K ₂ O mg/100g	30,00		24,00		31,90		33,00	
Humus(%)	3,90		3,70		4,20		4,40	
Obrada zemljišta	Osnovna jesenja duboka obrada (30 cm) i prolećna predsetvena priprema zemljišta							
Đubrenje mineralnim hranivima	300 kg/ha karbamida (urea) u proleće, pre setve				120 kg/ha NPK (10:52:0) u jesen 280 kg/ha karbamida (urea) u proleće, pre setve			
Zaštita od korova	U Pre-em fazi primenjen je <i>Terbis500</i> i <i>Mont</i> (aktivna materija: <i>Terbutilazin</i> i <i>S-metolahlor</i>); U Post-em fazi primenjen je <i>Innovate</i> i <i>Callisto</i> (aktivna materija: <i>Nicosulfuron</i> i <i>Mesotrione</i>)							

Predusev ogleda bila su strna žita (pšenica). Osnovna obrada zemljišta obavljena je u jesen. Oranjem zemlje na dubini do 30 cm uneta su kompleksna NPK10:52:0 hraniva u količini od 120 kg/ha. Predsetvena priprema ogleda se u optimizaciji uslova za klijanje stvaranjem rastresitog

površinskog sloja, ravnanjem parcele i unosom azotnog hraniva tipa karbamid (urea) sa sadržajem azota od 46% u amidnom obliku, primenjenog u proleće u količinama od 280-300 kg/ha u zavisnosti od lokacije.

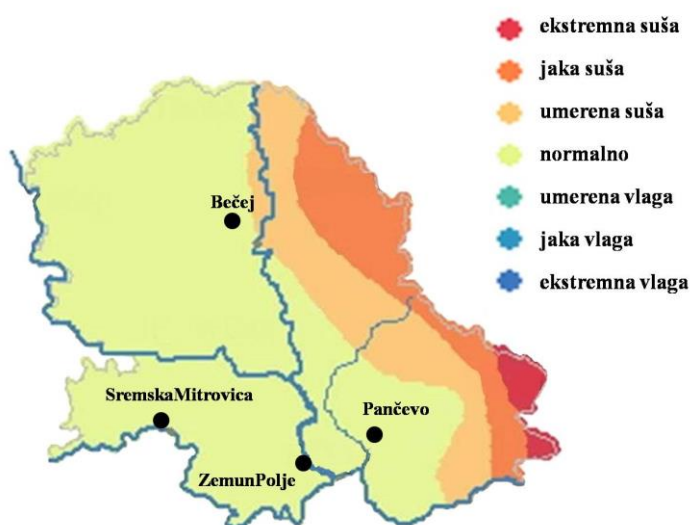
Datumi setve i berbe ogleđa prikazani su u Tabeli 5, a određeni su prema uslovima na ispitivanim lokacijama. Sve agrotehničke mere koje su primenjene u direktnom uništavanju korova su hemijskog karaktera delovanja i spadaju u standardnu agrotehniku koja se primenjuje za širokorede useve. Tretiranje u *pre-em* fazi (posle setve, a pre nicanja) izvršeno je selektivnim translokacionim herbicidom *Terbis 500* na bazi aktivne materije *terbutilazin* (500 g/l) u količini od 2 l/ha (1000 g/ha aktivne materije) i *Mont* na bazi aktivne materije *S-metolahlor* (960 g/l) u količini 1,5 l/ha (1440 g/ha aktivne materije). U toku vegetacionog perioda kukuruza u *post-em* fazi izvršeno je korektivno tretiranje jednogodišnjih i višegodišnjih uskolisnih i pojedinih širokolisnih korova, u fazi 5-7 listova, a u kombinaciji sa herbicidom *Innovate* na bazi aktivne materije *nikosulfuron* (240 g/l) u količini od 0,2 l/ha (48 g/ha aktivne materije) i sa herbicidom *Callisto* na bazi aktivne materije *mesotrione* (480 g/kg) u količini 0,25 kg/ha (120 g/ha aktivne materije).

Oko ogleđa posejan je zaštitni pojas kako bi se izjednačili kompeticijski uslovi za rubne redove. Svaki genotip bio je obeležen etiketom na kojoj su ispisani redni i broj pojasa, a u cilju prikupljanja podataka sa oglednih parcela tokom ispitivanja za sve navedene osobine.

5.2.2. Agrometeorološki uslovi

5.2.2.1. Agrometeorološki uslovi tokom 2015. godine

Česte kiše, preovlađujuće hladno i vetrovito vreme sa velikim kolebanjima temperature obeležile su rani prolećni period 2015. godine. Početak aprila je praćen obilnim padavinama od 20 do 50 mm. Drugi deo meseca bio je znatno topliji i sa ređom pojavom padavina. U periodu od kraja aprila i u prvoj polovini maja registrovano je samo 50% prosečnih padavina za ovo doba godine. Međutim, poslednjih desetak dana maja obeležio je period sa obilnijim padavinama u količinama od oko 60 mm. Period od juna do avgusta karakterisalo je toplije vreme od uobičajenog sa znatno manjom količinom padavina u odnosu na višegodišnji prosek. Tokom većeg dela jula, bile su visoke maksimalne temperature vazduha, između 35°C i 38°C i vreme sa vrlo malo padavina od 5 do 15 mm. Osim količine, bio je nepovoljan i raspored padavina u toku leta. Uslovi vlažnosti, procenjeni na osnovu Standardizovanog padavinskog indeksa (SPI-3) (Slika 8), bili su najnepovoljniji od kraja prve dekade jula do sredine avgusta u velikom delu Vojvodine.

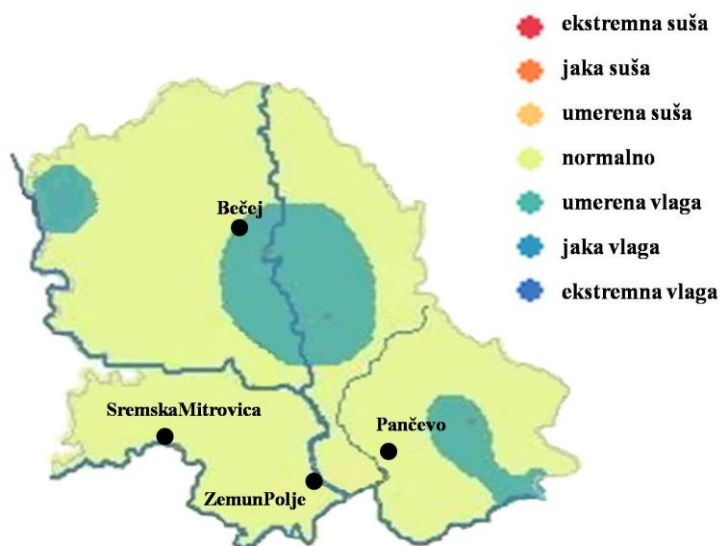


Slika 8. Uslovi vlažnosti na ispitivanim lokalitetima, procenjeni na osnovu *SPI-6*, određenog za vegetacioni period 1.4 – 30. 9. 2015. godine *Izvor: RHMZS*

Ovaj period obeležio je toplotni stres i suša. Padavine najčešće pljuskovitog karaktera i svežije vreme su zabeleženi u drugoj polovini avgusta meseca, kada su registrovane uobičajene količine padavina koje su se kretale između 40 i 70 mm kiše. Poslednji mesec vegetacionog perioda 2015. godine, septembar, karakterisalo je toplije vreme od uobičajenog sa većom količinom padavina u odnosu na višegodišnji prosek. Na osnovu šestomesečnog indeksa padavina (SPI-6) u najvećem delu Vojvodine zabeleženi su normalni uslovi vlažnosti.

5.2.2.2. Agrometeorološki uslovi tokom 2016. godine

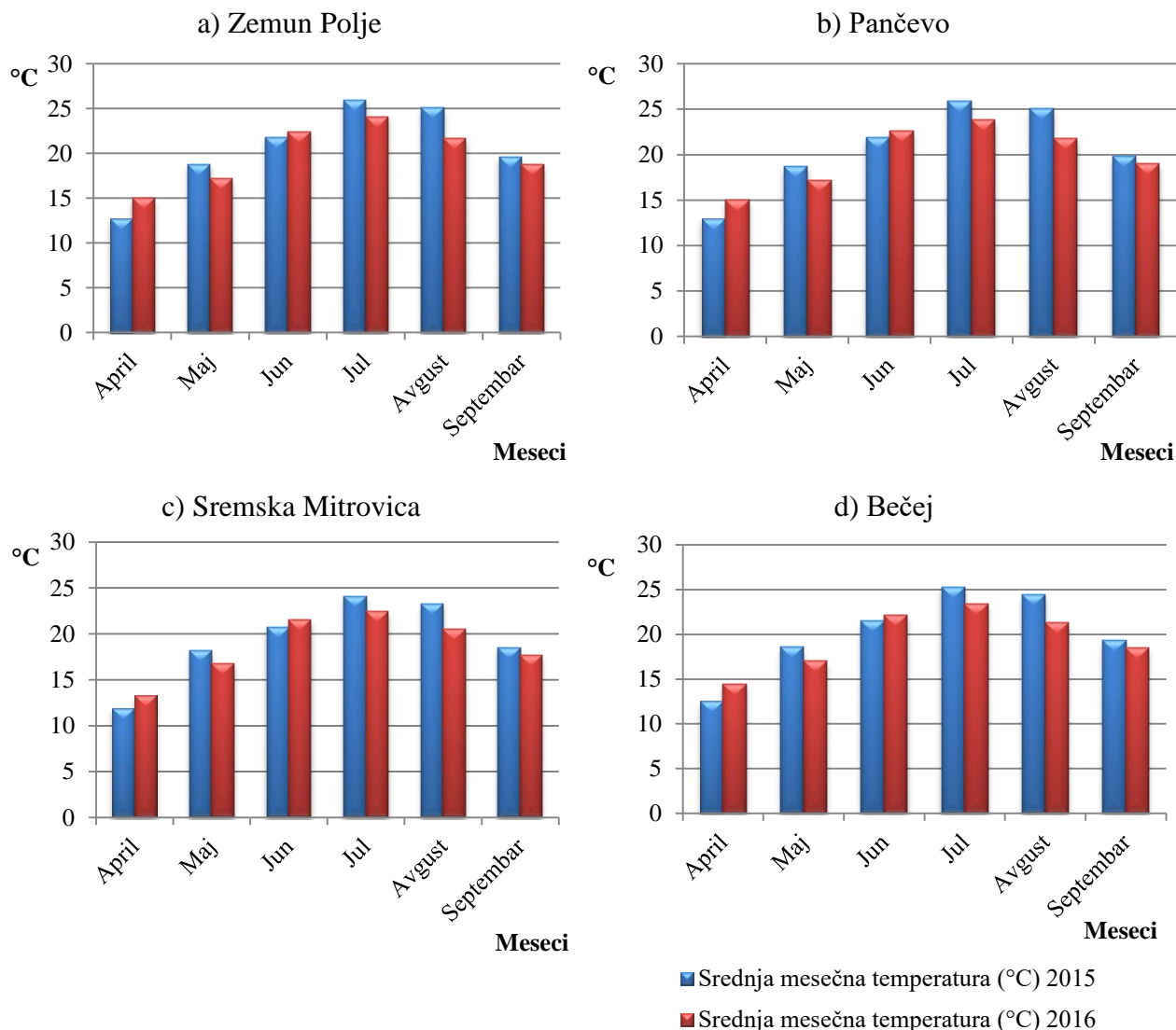
Veoma povoljni agrometeorološki uslovi obeležili su 2016. godinu. U toku godine nije bilo značajnijih ekstremnih odstupanja vremenskih prilika od prosečnih za naše klimatsko područje. Period od marta do maja karakterisalo je promenljivo, toplije vreme od uobičajenog sa većom količinom padavina u odnosu na višegodišnji prosek. Sredinom juna meseca, usled prodora veoma toplog vazduha, temperature su bile znatno iznad proseka za ovaj period godine. Maksimalne dnevne temperature su pojedinih dana dostizale čak 36°C. U drugom delu jula meseca došlo je do znatnog zahlađenja sa padom temperature vazduha za 10-15°C i obilnim padavinama. Generalno gledano, period od juna do avgusta, obeležile su povoljne vremenske prilike za gajenje kukuruza, iako je bilo toplije i sa većom količinom padavina u odnosu na višegodišnji prosek. U ovoj godini je i raspored padavina bio izuzetno povoljan. Zabeležene su kiše svakih desetak dana u količinama koje bi odgovarale normi navodnjavanja (10 – 15 mm). Najtopliji deo leta bio je kraj juna i prva polovina jula meseca. Od početka druge dekade avgusta temperature vazduha su se kretale oko i ispod prosečnih vrednosti. Maksimalne temperature vazduha bile su do najviše 28°C, dok su minimalne jutarnje temperature bile znatno ispod prosečnih vrednosti za ovo doba godine. U drugoj polovini avgusta, padavine su se kretale oko 80 mm, što je uobičajeno za područje Vojvodine. Septembar je bio značajno topliji u odnosu na prosečne uslove. U vegetacionom periodu 2016. godine na osnovu šestomesečnog indeksa padavina (SPI-6) u najvećem delu Vojvodine zabeleženi su normalni uslovi vlažnosti (Slika 9).



Slika 9. Uslovi vlažnosti na ispitivanim lokalitetima, procenjeni na osnovu SPI-6, određenog za vegetacioni period 1.4 – 30. 9. 2016. godine *Izvor: RHMZS*

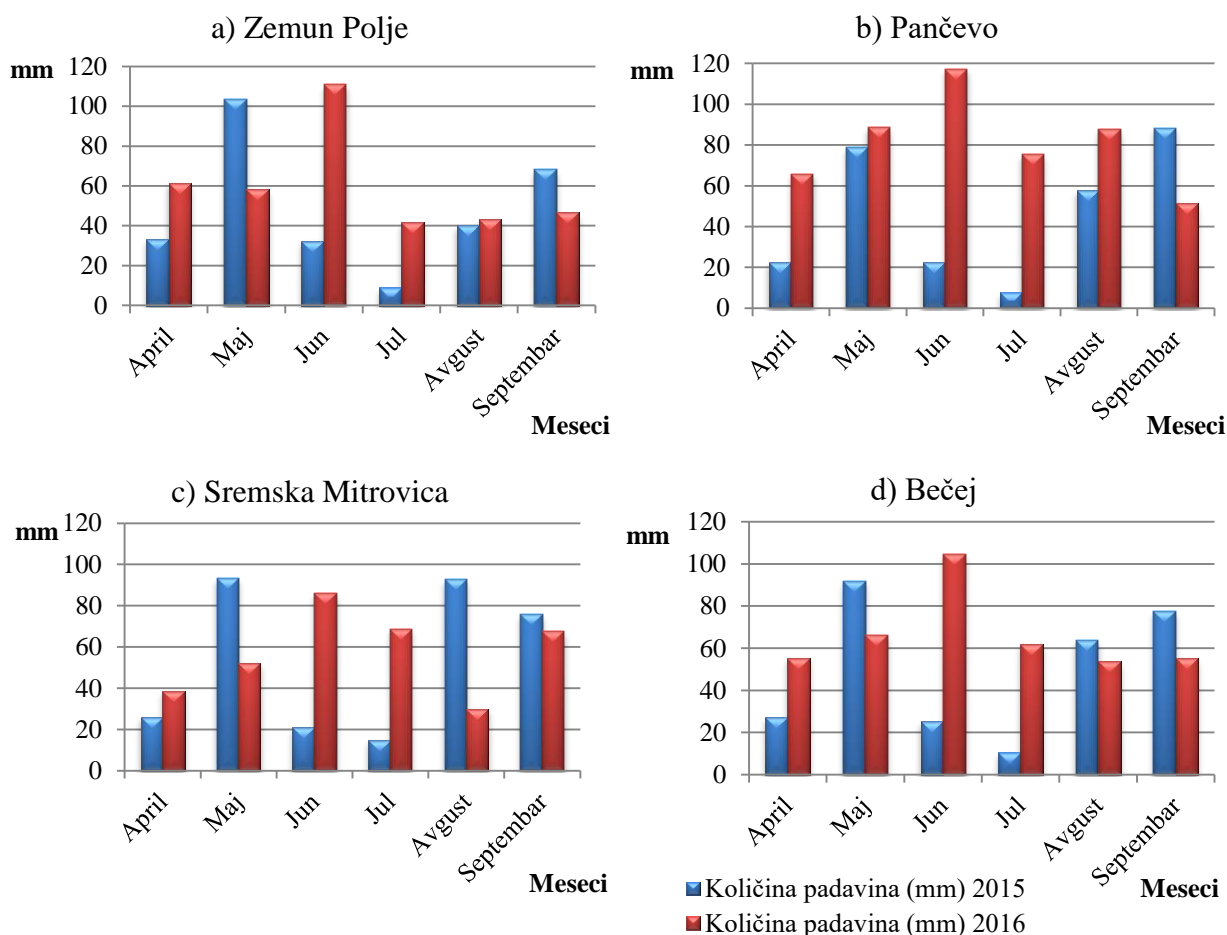
Na osnovu mesečnih podataka o visini temperature sa ispitivanih lokacija, može se uočiti da su srednje mesečne temperature u 2016. godini nešto niže u odnosu na 2015. godinu. Prosečne mesečne temperature u periodu od aprila do septembra za lokacije Zemun Polje i Pančevo iznosile su 21°C tokom 2015. godine, a 20°C tokom 2016. godine. Isti parametar, za lokaciju Sremska Mitrovica je tokom obe godine iznosio 19°C, dok je prosečna šestomesečna temperatura na lokaciji

Bečej tokom 2015. godine iznosila 20°C, a tokom 2016. godine 19°C. Najveća prosečna temperatura zabeležena je na lokaciji Pančevo od 26°C tokom jula meseca 2015. godine (Grafikon 5 a, b, c i d).



Grafikon 5. Prosečne vrednosti srednjih mesečnih temperatura tokom 2015. i 2016. godine

S druge strane, tokom 2016. godine može se uočiti povišen stepen padavina u odnosu na 2015. godinu. U prilog tome govore drastične razlike količine padavina između dve godine tokom juna i jula. Međutim, ekstremi za količinu padavina zabeleženi su i tokom 2015. godine, kada je u maju i septembru na gotovo svim lokacijama bilo više padavina u odnosu na 2016. godinu. Prosečne šestomesečne količine padavina za lokaciju Zemun Polje tokom 2015. godine iznosile su 48 mm, a tokom 2016. godine 60 mm. Lokacija Pančevo je tokom 2015. godine imala količine padavina od 46 mm, dok je tokom 2016. godine ta količina iznosila 81 mm. Na lokaciji Sremska Mitrovica ne postoji značajna šestomesečna razlika u količini padavina između godina. Tako je tokom 2015. godine količina padavina u toku vegetacionog perioda iznosila 54 mm, a tokom 2016. godine 57 mm. Lokacija Bečej je imala značajno veću količinu padavina tokom 2016. godine od 66 mm u odnosu na 2015. godinu kada je taj prosekok iznosio 49 mm. Najveća prosečna količina padavina zabeležena je na lokaciji Pančevo od 117 mm tokom juna meseca 2016. godine (Grafikon 6 a, b, c i d).



Grafikon 6. Prosečne vrednosti srednjih količina padavina tokom 2015. i 2016. godine

5.3. Merenje morfoloških osobina *test cross* hibrida i prinos zrna

5.3.1. Kvantitativna svojstva

Radi određivanja kombinacionih sposobnosti ispitivanog materijala mereni su prinos zrna i morfološke osobine *test cross* hibrida. Fenotipske osobine biljke merene su neposredno nakon faze cvetanja (kraj jula, početak avgusta), kada biljka kukuruza dostiže maksimalan porast i ulazi u fazu mlečne zrelosti, na uzorku od 10 biljaka po hibridu u oba ponavljanja i svim lokalitetima u obe godine ispitivanja (Slika 10 a, b i c). Merene su sledeće osobine:

- Visina biljke do vrha metlice (cm)
- Visina biljke do klipa (cm)
- Dužina klipnog lista (cm)
- Širina klipnog lista (cm)
- Broj listova iznad gornjeg klipa.



Slika 10. Merenje fenotipskih osobina

Na osnovu merenih visina izračunat je odnos visine biljke do klipa i visine biljke do vrha metlice (%).

Pre mašinske berbe uzorkovano je po deset nasumično odabranih klipova svakog genotipa za merenje i ocenu morfoloških osobina klipa. Merene su sledeće osobine:

- Dužina klipa (cm)
- Prečnik klipa (cm)
- Prečnik koćanke (cm)
- Broj redova zrna
- Broj zrna u redu
- Masa 1000 semena (g)

Masa 1000 semena predstavlja brojčani izraz za osobinu kao što je krupnoća semena. (Lekić, 2009). Dobija se merenjem prosečne mase 8×100 semena uzetih iz čistog semena sa datom vlagom preračunato na 1000 semena. Prema Mirić i sar. (2007) masa 1000 semena je formalno propisana veličina, a koja se obavezno meri kod pojedinih biljnih vrsta kao što je kukuruz. Zavisí od vrste, hibrida/sorte, uslova sredine, agrotehničkih mera i dr. Masa 1000 semena se može formirati oplemenjivanjem, dok se konačno stanje njenih vrednosti i homogenost postižu sušenjem i doradom (frakcionisanjem). Saglasno pravilima Međunarodnog udruženja za ispistivanje semena (ISTA, 2006), nakon merenja istovremeno se računaju varijansa, standardna devijacija i koeficijent varijacije na sledeći način:

a) varijansa

$$V = \frac{N \cdot (\sum x^2) - (\sum x)^2}{N \cdot (N - 1)}$$

gde je:

N – broj ponavljanja,

x – masa osam pojedinačnih ponavljanja (g)

b) standardna devijacija

$$S = \sqrt{V}$$

gde je:

V – varijansa

c) koeficijent varijacije

$$Cv = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100$$

gde je:

S – standardna devijacija

\bar{x} – prosečna masa 100 semena

Na osnovu razlike između izmerenih prečnika klipa i oklaska izračunata je dubina zrna.

$$DZ = \frac{(PRkl - PRokl)}{2}$$

gde je:

DZ – dubina zrna (cm)

$PRkl$ – prečnik klipa

$PRokl$ – prečnik oklaska

5.3.2. Kvalitativna svojstva

Na osnovu deset uzorkovanih klipova ocenjivane su sledeće osobine:

- a) po *UPOV* deskriptoru za kukuruz (*UPOV*, 2009):
 - boja vrha zrna,
 - tip zrna,
 - oblik klipa i
 - intenzitet antocijanske obojenosti plevica oklaska;
- b) po *CIMMYT/IBPGR* deskriptoru za kukuruz:
 - pravost redova (Slika 11 a, b, i c).



Slika 11. Merenje morfoloških osobina klipa

Boja vrha zrna



1. *white*

3. *yellow*

5. *orange*

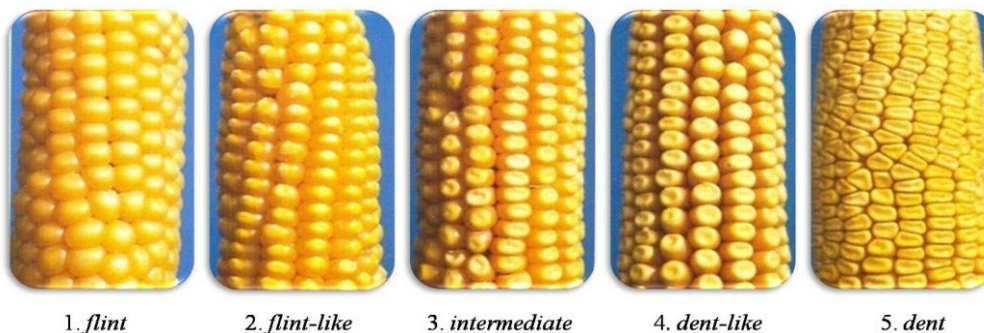
7. *red*

Slika 12. Tipovi boja vrha zrna po deskriptoru za kukuruz

Izvor: *ASFIS/GEVES/GNIS*, 1998.

Skala za ocenu boje zrna kreće se u rasponu 1-9:

- 1) *white* – bela
- 2) *yellowish white* – žućkasto bela
- 3) *yellow* - žuta
- 4) *yellow orange* – žućkasto narandžasta
- 5) *orange* - narandžasta
- 6) *red orange* – crvenkasto narandžasta
- 7) *red* - crvena
- 8) *dark red* – tamno crvena
- 9) *blue black* – plavo crna

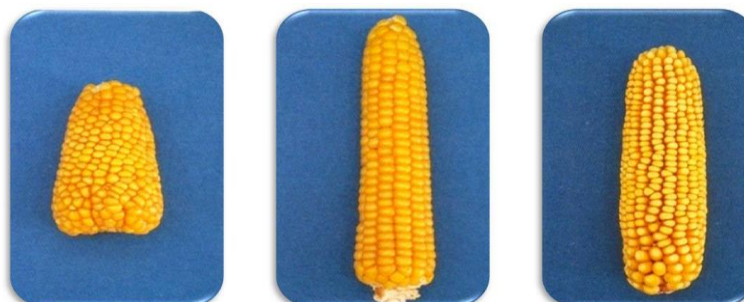
Tip zrna

Slika 13. Tipovi zrna po deskriptoru za kukuruz

Izvor: ASFIS/GEVES/GNIS, 1998.

Tip zrna se određuje na srednjem delu klipa u punoj zrelosti, ocenama od 1 do 7:

- 1) *flint* - tvrdunac
- 2) *flint-like* - polutvrđunac
- 3) *intermediate* – prelazni (intermedijarni)
- 4) *dent-like* - poluzuban
- 5) *dent* - zuban
- 6) *sweet* - šećerac
- 7) *pop* - tvrdunac u tipu kokičara

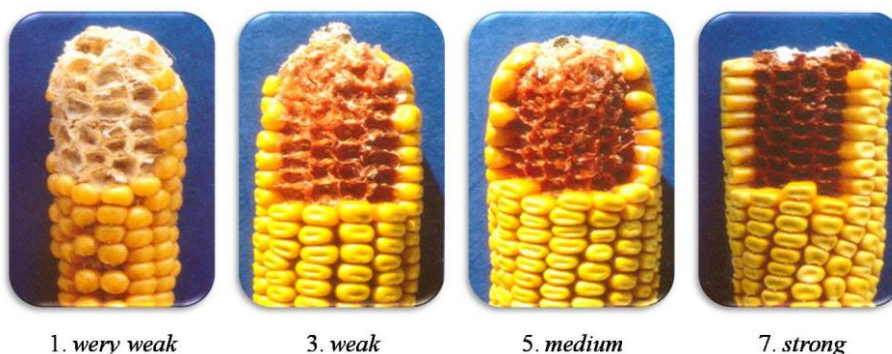
Oblik klipa

Slika 14. Oblik klipa po deskriptoru za kukuruz

Izvor: ASFIS/GEVES/GNIS, 1998.

Ova osobina određuje se na klipu u vreme pune zrelosti ocenama 1-3:

- 1) *conical* – koničan
- 2) *conico-cylindrical* – konično-cilindričan
- 3) *cylindrical* – cilindričan.

Intenzitet antocijanskog obojenja plešica oklaska

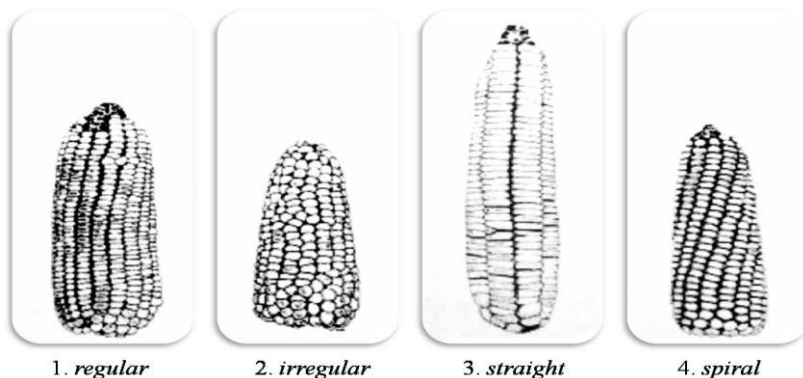
Slika 15. Intenzitet antocijanskog obojenja plešica oklaska po deskriptoru za kukuruz

Izvor: ASFIS/GEVES/GNIS, 1998.

Određuje se u vreme pune zrelosti klipa, a nakon krunjenja po skali od 1 do 9:

- 1) *very weak* – veoma slabo obojenje
- 3) *weak* – slabo obojenje
- 5) *medium* – srednje obojenje
- 7) *strong* – jako obojenje
- 9) *very strong* – veoma jako obojenje.

Pravost redova (raspored zrna u redu)



Slika 16. Pravost redova (raspored zrna u redu) po deskriptoru za kukuruz
Izvor: CIMMYT/IBPGR, 1991.

Pravost redova ili raspored zrna u redu je osobina koja se ocenjuje u fazi pune zrelosti, na gornjem klipu, po skali:

- 1) *regular* – pravilan
- 2) *irregular* – nepravilan
- 3) *straight* – prav - ravno
- 4) *spiral* – zavojit (spiralan).

Prinos zrna test cross hibrida

Pre berbe izbrojan je ukupan broj, kao i broj poplegih i slomljenih biljaka. Berba ogleđa obavljena je mašinski. Prinos zrna meren je po parceli, a preračunat na 14% vlage.



Slika 17. Uzorkovanje klipova za morfološka merenja

Nakon merenja i ocene morfoloških osobina klipa na uzorcima, koji su uzimani pre mašinske berbe (Slika 17 a, b, c i d), oni su okrunjeni, izmerena je vlaga i težina uzorka posle čega je preračunata na 14% vlage, kako bi mogla biti pridružena težini požnjevenog zrna sa odgovarajuće elementarne parcele. Nakon toga izračunat je prinos zrna u t/ha.

5.4. Molekularna karakterizacija roditeljskih komponenata *test cross* hibrida (lokalnih populacija i testera)

5.4.1. Izolacija DNK molekula

U cilju određivanja genetičke distance između roditeljskih komponenata *test cross* hibrida urađena je molekularna karakterizacija SSR markerima tokom 2017. godine. Pored 31 populacije i tri testera koji su bili uključeni u ukrštanja, molekularna karakterizacija je obuhvatila i dva rana testera F2 i Polj17, koji zbog loših agronomskih osobina nisu bili uključeni u ukrštanja.

Izolacija DNK kukuruza urađena je prema CTAB (*Cetyl-trimethyl ammonium bromide*) protokolu, modifikovanoj metodi Doyle i Doyle (1990). Svaka populacija je predstavljena sa po 30 zrna, dok je za linije uzeto po pet zrna. Uzorci su samleveni u mlinu za simultano mlevenje pojedinačnog zrna (Kataskapt), nakon čega je napravljen grupni uzorak (*eng. - bulk*) i odmereno je po 100-150 mg brašna za dalju analizu. Zatim je u epruvete sa biljnim materijalom dodato po 900 μ L sveže napravljenog ekstrakcionog pufera (2% CTAB; 100 mM Tris - HCl, pH 8,0; 25 mM EDTA, pH 8,0; 1,4 M NaCl; 0,2% β -mercaptoethanol) prethodno zagrejanog u vodenom kupatilu na 65°C. Uzorci su inkubirani u vodenom kupatilu na istoj temperaturi 30 minuta uz povremeno blago mešanje inverzijom svakih 10 minuta. Inkubacijom DNK u vodenom kupatilu dolazi do razbijanja ćelijskog zida i oslobađanja DNK iz ćelija. Nakon inkubacije, smeši je dodato 900 μ L hloroform:izoamilalkohola u odnosu 24:1, i uzorci su mučkani do dobijanja emulzije. U sledećem koraku uzorci su centrifugirani 5 minuta na 12000 rpm na sobnoj temperaturi. Ovim postupkom dolazi do formiranja nekoliko frakcija. U donjoj fazi proteini se vezuju za hloroform, u srednjoj frakciji nalaze se ostaci tkiva, dok je gornja vodena faza (supernatant) preneti u nove epruvete uz dodavanje 0,7 zapremine ledenog izopropanola. Epruvete su mešane laganim okretanjem do pojave končastih niti DNK i zatim prenete na -20°C na 1 h radi precipitacije DNK. Uzorci su centrifugirani 5 minuta na 12000 rpm na sobnoj temperaturi, nakog čega je odbačen supernatant. Nakon odlivanja supernatanta, dodato je 1 mL 75% etanola u epruvete sa DNK koja je ostala na dnu u vidu peleta. Inkubacija je trajala 1 h na sobnoj temperaturi. Uzorci su zatim centrifugirani na 12000 rpm u trajanju od 10 minuta, gornja faza je uklonjena. Ponovo je dodato po 1 mL 75% etanola u uzorke koji su zatim centrifugirani 3 minuta na 12000 rpm, na sobnoj temperaturi. Epruvete sa DNK su stavljen na sušenje 1 h, nakon čega je dodato 50 μ L 0.1 x TE pufera (1 M Tris-HCl, pH 8,0; 0,1 mM EDTA, pH 8,0) i rastvorena DNK je ostavljena preko noći na 4°C. Uzorci DNK su se do upotrebe čuvali na -20°C.

5.4.2. Određivanje koncentracije DNK molekula

Koncentracija i kvalitet izolovane DNK određen je spektrofotometrijskom metodom na *Eppendorf BioSpectrometer® kinetic* spektrofotometru. Izmerena je apsorbancija na talasnim dužinama $\lambda=230$, $\lambda=260$ i $\lambda=280$ nm, a koncentracija DNK je izračunata na osnovu vrednosti apsorbancije na talasnoj dužini $\lambda=260$ nm prema formuli:

$$C_{(\mu\text{g}/\mu\text{L})} = \frac{(\text{OD}_{260} \cdot R \cdot 50)}{1000}$$

gde je:

OD₂₆₀ - najveća vrednost apsorbancije UV svetlosti dvostrukog lanca DNK na talasnoj dužini od $\lambda=260$ nm;

R - faktor razblaženja uzorka DNK pri očitavanju apsorbance;

50 - koncentracija 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ koja ima apsorbancu OD = 1 (jedna jedinica optičke gustine odgovara koncentraciji DNK od 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

5.4.3. Provera kvaliteta DNK molekula

Čistoća uzorka se određuje na osnovu odnosa A260:A280 i A260:A230. Na talasnoj dužini od $\lambda=280$ nm najveća je apsorbanacija proteina, dok je na $\lambda=230$ nm najveća apsorbanacija ugljenih hidrata, fenola i soli. DNK se smatra dovoljno čistom za marker analizu ako je odnos OD260/OD280 u opsegu 1,8 - 2,0, a odnos OD260/OD230 u opsegu 1,8 - 2,2.

5.4.4. Amplifikacija DNK – PCR metod

Nakon provere kvaliteta i određivanja koncentracije, lančanom reakcijom polimeraze (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) po Edwards-u et al. (1991) amplifikovane su mikrosatelitske sekvence 33 pari SSR prajmera (Tabela 6). Ova metoda omogućava stvaranje velikog broja kopija željene sekvence DNK molekula, od male početne količine DNK. Amplifikacija je izvedena u 25 μ L reakcione smeše koja se sastojala od 1 \times PCR pufera za PCR (*Fermentas*), 0,8 mM dNTP, 0,5 μ M prajmera (*forward* i *reverse*) i 1 U *Taq* polimeraze (*Fermentas*) i 50 ng genomske DNK. Sterilnom vodom smeša se dopunjavala do konačne zapremine.

Reakcija je izvedena u PCR mašini *Biometra TProfessional Standard 96* po programu *Touchdown* u PCR pločama sa 96 mesta. Reakcija se sastojala od sledećih koraka:

- raskidanje vodoničnih veza komplementarnih lanaca DNK - inicijalna denaturacija na 95°C/5 minuta, zatim sledi,
- 15 ciklusa denaturacije na 95°C/30 sekundi, nakon toga
- vezivanje prajmera za fragment na matrici koji se umnožava (*eng. - annealing*) na 63,5°C/1 minut (smanjivanje temperature za - 0,5°C) i
- umnožavanje novih lanaca - elongacija na 72°C/1minut.
- Sledeća 22 ciklusa su se odvijala na 95°C/30 sekundi, 56°C/1minut i 72°C/1minut, sa finalnom elongacijom na 72°C/7 minuta.

5.4.5. Poliakrilamidna elektroforeza (A-PAGE)

Elektroforetsko razdvajanje izvršeno je posle umnožavanja DNK fragmenata. Elektroforeza radi na principu električnog polja, kroz koje se negativno naelektrisan molekul DNK kreće od katode ka anodi. Kretanje molekula DNK kroz gel zavisi od više faktora: koncentracija gela, dužine DNK fragmenata, kao i jačine napona, odnosno struje. PCR produkti su razdvojeni na 8% poliakrilamidnom gelu (30% akrilamid, 5 \times TBE, 10% amonijum persulfat i TEMED – tetrametilendiamin i bidestilovane vode). Na gel je nanošeno po 8 μ L PCR smeše i DNK marker od 20 bp DNK marker (*Fermentas*). Elektroforeza je trajala 50 minuta sa konstantnom strujom od 60 mA na vertikalnom gel sistemu (*Mini Protean Tetra-Cell BioRad*) u 0,5 \times TBE deset puta razblažen 5 \times TBE pufer – 445 mM Tris; 445 mM Borna kiselina, 0,5 M EDTA, pH 8,0. Nakon elektroforeze gelovi su bojani 20 minuta u rastvoru 0,5 μ g/ μ L etidijum bromida, a zatim fotografisani pod UV svetlom transiluminatora pomoću sistema za dokumentaciju (*gel documentation system, BioDocAnalyze, Biometra*). Razdvojeni fragmenti DNK se detektuju na različitim pozicijama na gelu. SSR profili za svaki prajmer su očitani merenjem frekvencije alela, koja je izražena kao procenat individualnih traka unutar uzorka.

5.4.6. Odabir genetičkih mikrosatelitskih prajmera kukuruza

Za genetičku analizu korišćeni su komercijalni prajmeri *Metabion International AG*, a detaljne informacije o sekvencama dostupne su u bazi podataka – *Maize Genetics and Genomics Database (MaizeGDB)*. <https://www.maizegdb.org/>

Od početnih 33 mikrosatelitskih prajmera koji su ispitani, za dalju molekularnu analizu izabrano je 29 polimorfni prajmera. Četri prajmera su izuzeta iz dalje analize zbog monomorfnosti i poteškoća u optimizaciji PCR reakcije.

Tabela 6. Naziv, pozicija na hromozomu (*bin*), ponovak i sekvenca *SSR* prajmera korišćenih u analizi genotipova kukuruza

Redni broj	Naziv prajmera	Bin	Ponovak	Sekvenca prajmera	
				(<i>Forward</i> sekvenca 5' - 3')	(<i>Reverse</i> sekvenca 3' - 5')
1	umc 1282	1.01	(AT)6	TACTACTACGACTCCCAACAGGA	GCGAGGGTTCTTTCCATAGAGAAT
2	bnlg 1083	1.02	AG(29)	CAACGCTGGTTTGTGCGTTTA	ACAGTCTGTTGGGGAACAGG
3	umc1013	1.03	(GA)9	TAATGTGTCCATACGGTGGTGG	AGCTGGCTAGTCTCAGGCACTC
4	umc 1122	1.06	(CGT)7	CACAACTCCATCAGAGGACAGAGA	CTGCTACGACATACGCAAGGC
5	umc 2047	1.09	(GACT)4	GACAGACATTCCCTCGCTACCTGAT	CTGCTAGCTACCAAACATTCCGAT
6	umc 1265	2.02	(TCAC)4	GCCTAGTCGCCTACCCTACCAAT	TGTGTTCTTGATTGGGTGAGACAT
7	umc 1736	2.09	(GCAT)6	CCATCCACCACTAGAAAGAGAGGA	TAAATCGATCGAGAGGTGCTTTTC
8	umc 1839	3.05	(AAG)6	TACAAGAGTGAGAAGCCCGATCAT	AGTCCCACTCCCAGCAAACAT
9	bnlg 197	3.06	-	GCGAGAAGAAAGCGAGCAGA	CGCCAAGAAGAAACACATCACA
10	bnlg1784	4.06	AG(13)	GCAACGATCTGTCAGACGAA	TTGGCATTGGTAATGGGTCT
11	umc 1418	4.08	(GGAAG)4	TCACACACACTACACTCGCAAT	GAGCCAAGAGCCAGAGCAAAG
12	phi 093	4.08	AGCT	AGTGCGTCAGCTTCATCGCCTACAAG	AGGCCATGCATGCTTGCAACAATGGATACA
13	umc 1109	4.10	(ACG)4	TCACACACACTACACTCGCAAT	GAGCCAAGAGCCAGAGCAAAG
14	phi 087	5.06	ACC	GAGAGGAGGTGTTGTTTGACACAC	ACAACCGGACAAGTCAGCAGATTG
15	umc 1153	5.09	(TCA)4	CAGCATCTATAGCTTGCTTGCATT	TGGGTTTTGTTTGTGTTTGTGTTG
16	phi 075	6.00	CT	GGAGGAGCTCACCGGCGCATAA	AAAGGTTACTGGACAAATATGCGTAACTCA
17	umc 1006	6.02	(GA)19	AATCGCTTACTTGTAACCCACTTG	AGTTTCCGAGCTGCTTTCTCT
18	umc1257	6.02	(CAC)4	CAACGGAAGTGGCTGTAGAGTTTT	ACAGAGCATGTCAGGTATTTGCAG
19	phi 452693	6.04	AGCC	CAAGTGCTCCGAGATCTTCCA	CGCGAACATATTCAGAAGTTTG
20	umc 1324	7.03	(AGC)5	ATCCATCATCATCATATTGCTTG	ATGTCATCATGTACCAGGTGTTGG
21	umc 1333	7.03	(CAG)4	AGGTAAGCGAGCATCTGAGGGT	TCTGGAGACTCTTCTGGGTGAAC
22	umc1456	7.03	(AACC)5	GCCACAGCTCACTAGCTCAAAAGT	CTCTGTGTGTTTGTGTTGATTGCTT
23	umc 1782	7.04	(GAC)4	CGTCAACTACCTGGCGAAGAA	TCGCATACCATGATCACTAGCTTC
24	umc 1799	7.04	(TG)12	GTGATGAATAATGTCCCAATTCC	GGACAGATGTCTGGAGATTGCTTT
25	bnlg 1782	8.05	AG(13)	TGTGTTGGAAATTGACCCAA	CGATGCTCCGCTAGGAATAG
26	phi 080	8.08	AGGAG	CACCCGATGCAACTTGCGTAGA	TCGTCACGTTCCACGACATCAC
27	umc 1040	9.01	(CT)11	CATTCCTCTCTTGCCAATTGA	AGTAAGAGTGGGATATTCTGGGAGTT
28	phi 032	9.02	AAAG	CTCCAGCAAGTGATGCGTGAC	GACACCCGGATCAATGATGGAAC
29	umc 1492	9.04	(GCT)4	GAGACCCAACCAAACTAATAATCTCTT	CTGCTGCAGACCATTTGAAATAAC
30	umc 1310	9.06	(GCG)5	GAGGAAGAGTTGGCCAGGATG	AACTCCGAGATCTACGACAACAGC
31	umc 1152	10.02	(ATAG)6	CCGAAGATAACCAACAATAATAGTAGG	ACTGTACGCCTCCCCTTCTC
32	umc 1506	10.05	(AAC)4	AAAAGAAACATGTTTCAGTCGAGCG	ATAAAGGTTGGCAAACGTCAGCCT
33	umc 1827	10.05	(GAC)6	GCAAGTCAGGGAGTCCAAGAGAG	CCACCTCACAGGTGTTCTACGAC

5.5. Statističke analize

5.5.1. Statistički metodi za analizu podataka fenotipskih osobina

Prinos zrna, kao i ostale merene fenotipske osobine *test cross* hibrida (visina biljke, visina klipa, odnos visine klipa i biljke, dužina lista, širina lista, broj listova iznad klipa, dužina klipa, prečnik klipa, prečnik kočanke, dubina zrna, broj redova zrna, broj zrna u redu i apsolutna masa) obrađene su kombinovanom dvofaktorijalnom analizom varijanse (ANOVA), po parcijalno uravnoteženom nepotpunom blok dizajnu (*PBIB - partially balanced incomplete block design*; Ghosh i Divecha, 1997) sa četiri bloka unutar svakog randomiziranog ponavljanja (spoljašnje sredine):

$$X_{ijkl} = \mu + \eta_k + R(L) + \alpha_i + (\alpha\eta)_{ik} + \beta_j + (\beta\eta)_{jk} + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\beta\eta)_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

gde su:

μ - srednja vrednost

η_k – efekat k -te spoljašnje sredine, gde je $k=1, \dots, 7$

$R(L)$ – kombinovani efekat ponavljanja unutar spoljašnje sredine

α_i – efekat i -tog oca, gde je $i=1, 2, 3$

$(\alpha\eta)_{ik}$ - efekat interakcije prvog reda između i -tog oca i k -te spoljašnje sredine

β_j – efekat j -te majke, gde je $j=1, \dots, 31$

$(\alpha\beta)_{ij}$ – efekat interakcije prvog reda između i -te majke i j -tog oca

$(\beta\eta)_{jk}$ - efekat interakcije prvog reda između j -te majke i k -te spoljašnje sredine

$(\alpha\beta\eta)_{ijk}$ - efekat interakcije drugog reda između i -tog oca, j -te majke i k -te spoljašnje sredine

ε_{ijkl} – slučajna greška koja po pretpostavci ima normalnu raspodelu sa nultim prosekom i varijansom σ_ε^2 , ($\varepsilon_{ijkl}: N(0; \sigma_\varepsilon^2)$), pri čemu važi:

$$\sum_{i=1}^k \alpha_i = \sum_{j=1}^s \beta_j = \sum_{k=1}^n \eta_k = \sum_{i=1}^k \sum_{k=1}^n (\alpha\eta)_{ik} = \sum_{j=1}^s \sum_{k=1}^n (\beta\eta)_{jk} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^s (\alpha\beta)_{ij} = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^s \sum_{k=1}^n (\alpha\beta\eta)_{ijk} = 0$$

Spoljašnja sredina, interakcija spoljašnje sredine i glavnih efekata faktora su uzete kao random efekti, dok su efekti testera (oca) i lokanih populacija (majke), uzeti kao fiksni efekti. Značajnost različitih izvora varijacije i njihovih interakcija testirana je F testom. LSD test je korišćen za poređenje značajnosti između sredina efekta majke (populacije) i oca (testeri), na nivou značajnosti 95% ($p \leq 0,05$). Na taj način identifikovane su populacije koje su najbolji opšti kombinatori za datu osobinu. Analiza varijanse kao i odgovarajući testovi, rađena je u MSTAT-C programu.

Posebna kombinaciona sposobnost (PKS) procenjena je za prinos zrna, kao svojstvo od najvećeg interesa. Mera za utvrđivanje PKS za prinos zrna dobijena je izdvajanjem perspektivnih specifičnih *test cross* kombinacija koje prevazilaze referentnu vrednost od 75% prinosa F1 hibrida nastalih ukrštanjem između testera (Radović i Jelovac, 1995). Ovaj procenat je verovatnoća, pri ukrštanjima populacije u ekvilibrijumu sa homozigotnom linijom, da će jedan lokus imati heterozigotne alele (Hallauer et al., 2010).

Na osnovu vrednosti ekspresije prinosa hibrida pojedinačnih populacija sa svakim od korišćenih testera, populacije će se svrstati u odgovarajuće heterotične grupe.

Linearna regresija je primenjena za utvrđivanje stepena povezanosti osobina populacija *per se* i vrednosti njihovih opštih kombinacionih sposobnosti (odgovarajućeg efekta majki), primenom Pearson-ovog koeficijenta korelacije (r) (Snedecor i Cochran, 1967):

$$r = \frac{\sum(X - \bar{X}) \sum(Y - \bar{Y})}{\sqrt{\sum(X - \bar{X})^2} \sqrt{\sum(Y - \bar{Y})^2}}$$

gde su:

$\sum(X - \bar{X})$ - suma odstupanja vrednosti parametra X od njegove srednje vrednosti,

$\sum(Y - \bar{Y})$ - suma odstupanja vrednosti parametra Y od njegove srednje vrednosti,

$\sqrt{\sum(X - \bar{X})^2}$ - kvadratni koren iz sume kvadrata odstupanja vrednosti parametra X od njegove srednje vrednosti,

$\sqrt{\sum(Y - \bar{Y})^2}$ - kvadratni koren sume kvadrata odstupanja vrednosti parametra Y od njegove srednje vrednosti.

Za interpretaciju visine koeficijenta korelacije odabrana je skala po Evans-u, (1996).

Tabela 7. Različite interpretacije visine koeficijenta korelacije

Interpretacija korelacije	Vrednost koeficijenta korelacije		
	(Guilford, 1978)	(Evans, 1996)	(Hinkle, Wiersma i Jurs, 2003)
veoma slaba	0,00-0,20	0,00-0,20	0,00-0,30
slaba	0,21-0,40	0,21-0,40	0,31-0,50
umerena	0,41-0,70	0,41-0,60	0,51-0,70
jaka	0,71-0,90	0,61-0,80	0,71-0,90
veoma jaka	0,91-1,00	0,81-1,00	0,91-1,00

Tabela 8. Model ANOVE i očekivane sredine kvadrata

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Sredine kvadrata (MS)	Očekivana vrednost sredine kvadrata
Spoljašnja sredina	n-1	$MS_{Bl} = \frac{SS_{Bl}}{n-1}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + k \cdot s \cdot r \cdot \sigma_{\eta}^2$
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	$MS_{R(L)} = \frac{SS_{R(L)}}{(r-1)n}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + k \cdot s \cdot \sigma_{R(L)}^2$
Efekat faktora A (otac)	k-1	$MS_A = \frac{SS_A}{k-1}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + s \cdot n \cdot r \cdot \sigma_{\alpha}^2$
Spoljašnja sredina × faktor A	(n-1)(k-1)	$MS_{BLA} = \frac{SS_{BLA}}{(n-1)(k-1)}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + s \cdot r \cdot \sigma_{\alpha\eta}^2$
Efekat faktora B (majka)	s-1	$MS_B = \frac{SS_B}{s-1}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + k \cdot n \cdot r \cdot \sigma_{\beta}^2$
Spoljašnja sredina × faktor B	(n-1)(s-1)	$MS_{BLB} = \frac{SS_{BLB}}{(n-1)(s-1)}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + k \cdot r \cdot \sigma_{\beta\eta}^2$
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(k-1)(s-1)}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + n \cdot r \cdot \sigma_{\alpha\beta}^2$
Spoljašnja sredina × efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	$MS_{BLAB} = \frac{SS_{BLAB}}{(n-1)(k-1)(s-1)}$	$\sigma_{\epsilon}^2 + r \cdot \sigma_{\alpha\beta\eta}^2$
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	$MS_G = \frac{SS_G}{n(n-1)(k-1)}$	σ_{ϵ}^2
UKUPNO	N-1		

Deskriptivna statistika primenjena je za fenotipske osobine ocenjivane ordinalnom mernom skalom po UPOV i CIMMYT/IBPGR deskriptorima za kukuruz: boja gornje strane zrna, tip zrna, pravost redova, oblik klipa i intenzitet antocijanske obojenosti plevice koćanke. Deskriptivna

analiza izvršena je u *SPSS* programu *20.0 for Windows Evaluation Version*. Izračunate su frekvencije i procenti pojedinih kategorija ispitivanih osobina na osnovu modusa (*Mo*) u interakciji lokalnih populacija i tri testera (L217, L73B013 i L255/75-5). Rezultati su predstavljeni grafički stubastim dijagramom.

5.5.2. Statistički metodi za analizu podataka dobijenih molekularnim markerima

Za određivanje frekvencije alela za svaki *SSR* marker izračunat je procenat piksela pojedinačnih alela unutar svakog uzorka, korišćenjem *UN-SCAN-IT gel 6.1* programskog paketa. Genetička srodnost između lokalnih populacija i testera, na osnovu genetičkih distanci i klaster analiza određena je korišćenjem *NTSYS* statističkog paketa verzija 2.1 (Rohlf, 2000).

Uzimajući u obzir model beskonačnog alela (Kimura i Crow, 1964), koeficijent distanci po Nei-u (1972) pogodan je za proučavanje filogenetskih odnosa između populacija.

$$GD = - \ln \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} p_{ij} q_{ij}}{\sqrt{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} p_{ij}^2 \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^{n_i} q_{ij}^2}}$$

gde: p_{ij} i q_{ij} predstavljaju frekvencije j -tog alela na i -tom lokusu
 n je broj alela na i -tom lokusu, a
 m je broj lokusa.

Vrednosti genetičkih distanci izračunatih po Nei-u, (1972) kreću se u opsegu od 0 do ∞ . Na osnovu *SSR* matrice alelnih frekvenci izračunate su genetičke distance između analiziranih lokalnih populacija i testera.

Na osnovu matrice genetičkih distanci ispitivanih genotipova urađena je klaster analiza. Korišćen je *UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages)* metod grupisanja koji predstavlja prosečnu vezu između grupa, obrađen u *SAHN* programu (*eng. - sequential, agglomerative, hierarchical and nested clustering method*); (Sneath i Sokal, 1973). *UPGMA* definiše udaljenosti između dva klastera kao prosek udaljenosti između svih parova koji se mogu definisati između dva objekta. Ona uzima u obzir informacije o svim parovima objekata između dva klastera, zbog čega je poželjnija od ostalih metoda. Ova tehinka je adekvatna za grupisanje uzoraka biljaka kukuruza zato što prouzrokuje malo distorzije tokom poređenja sa početnom sličnom matricom i obezbeđuje više kontrasta unutar klasifikacije (Rohlf, 2000).

Nedostatak klaster analize ogleda se u tome što rezultate predstavlja u obliku jasno definisanih, diskretnih grupa i onda kada postoji kontinuirana varijabilnost u podacima. Kako bi se potpunije sagledale genetičke sličnosti ispitivanih genotipova, na osnovu matrice genetičkih sličnosti, urađena je korespondentna analiza u *SPSS 20.0 for Windows Evaluation* programu. Ova analiza daje slične rezultate kao i klaster analiza, ali je istovremeno informativnija u grafičkom predstavljanju rezultata, pogotovo u slučajevima gde je prisutna znatna genetička razmena između geografski bliskih populacija (Cavalli-Sforza et al., 1994). Rezultati su prikazani na 2D i 3D grafikonima.

VI

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

 6.1. Rezultati analize varijanse (ANOVA) kvantitativnih osobina *test cross* hibrida

6.1.1. Visina biljke

Opšti prosek za osobinu visina biljke *test cross* hibrida iznosio je 255,819 cm. Iz Tabele 9 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p=0,274 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za visinu biljke. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 4,76%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu visina biljke (Tabela 9).

Tabela 9. Tabela analize varijanse za osobinu visina biljke

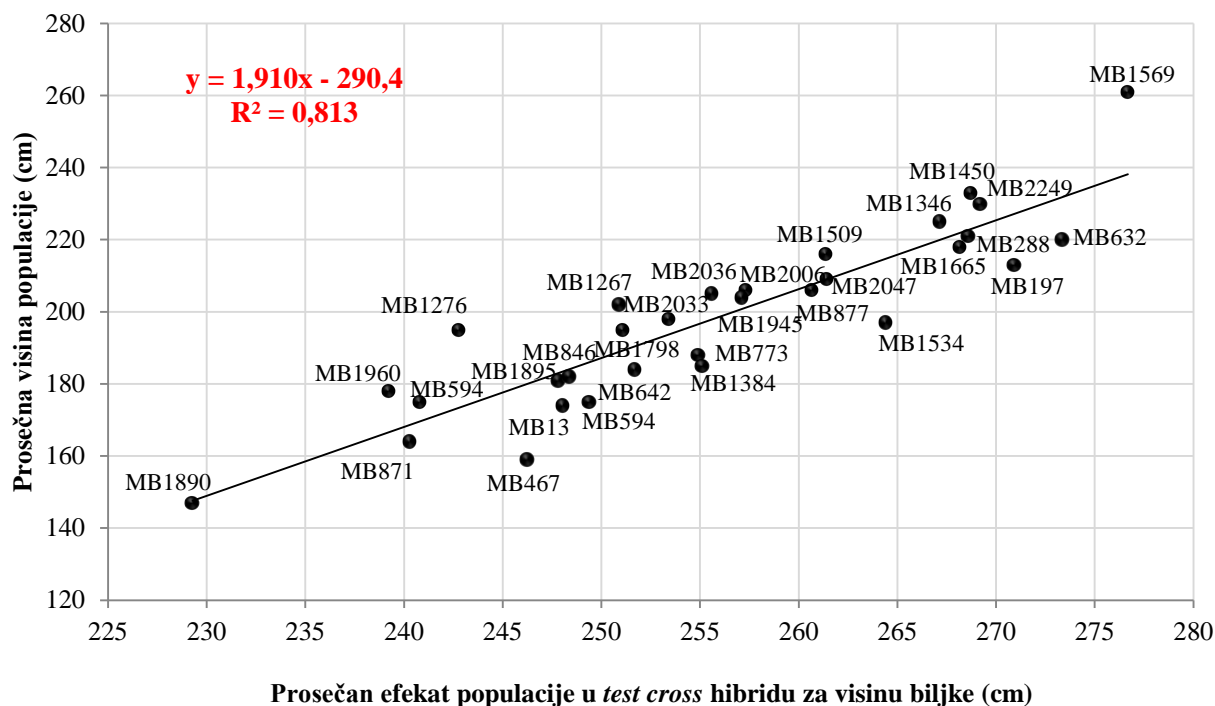
Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	240814,867	40135,811	270,4265 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	2866,002	409,429	2,758 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	12927,447	6463,724	43,5512 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	8513,801	709,483	4,7803 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	164728,535	5490,951	36,9969 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	56871,352	315,952	2,1288 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	23039,062	383,984	2,5872 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	56442,45	156,785	1,0564 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	95580,363	148,417	
UKUPNO	N-1	1301	661783,879		CV = 4,76%

Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$) utvrđeno je da populacije MB1569 i MB632 u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveću visinu *test cross* hibrida (276,7 i 273,4 cm, respektivno). Odnosno, ukoliko bi visina biljke bila svojstvo od interesa može se reći da su populacije MB1569 i MB632 najbolji opšti kombinatori - odnosno, imaju najbolje opšte kombinacione sposobnosti (OKS) za visinu biljke. Takođe, visoke hibride u ukrštanjima sa sva tri testera daju populacije MB197, MB2249, MB1450, MB288 i MB1665. Sve pomenute populacije su populacije zubana koje pripadaju osmoj (MB1665, MB2249, MB632) jedanaestoj (MB1450, MB197, MB288) i desetoj (MB1569) homogenoj grupi (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje visine - robusnosti biljke, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 10).

Tabela 10. Značajnost razlika efekta majke (populacija) u *test cross* hibridima za visinu biljke do vrha metlice ($LSD = 5,220$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za visinu biljke (cm)								
A	•	MB1569	276,7						
AB	•	MB632	273,4						
BC	•	MB197	270,9						
BCD	••••	MB2249	269,2	MB1450	268,7	MB288	268,6	MB1665	268,2
CD	•	MB1346	267,2						
DE	•	MB1534	264,4						
EF	••	MB1535	265,4	MB2047	261,4				
EFG	•	MB1536	266,4						
FGH	••	MB1537	267,4	MB1945	257,1				
GHI	•	MB1538	268,4						
HI	••	MB1539	269,4	MB773	254,9				
HIJ	•	MB2033	253,4						
IJK	•	MB642	251,7						
IJKL	••	MB1798	251,1	MB1267	250,9				
JKL	••	MB2144	249,4	MB846	248,4				
KL	•	MB13	248,1						
KLM	•	MB1895	247,8						
LM	•	MB467	246,3						
MN	•	MB1276	242,8						
N	•••	MB594	240,8	MB871	240,3	MB1960	239,3		
O	•	MB1890	229,3						

S druge strane, populacija MB1890 (prve homogene grupe), u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjom visinom biljke (229,3 cm). Pored ove, niske hibride u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije MB1960, MB871, MB594 i MB1276. Ove populacije pripadaju ranim populacijama prve (MB1890), druge (MB594), i četvrte (MB1960, MB1276, MB871) homogene grupe, koje su po tipu zrna tvrdunci ili slični tvrduncima sa izuzetkom populacije MB1276 koja je u tipu zubana. Ako uporedimo visine populacija *per se* (Tabela 1) i njihove odgovarajuće vrednosti opštih kombinacionih sposobnosti uočava se da visoke populacije *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju i visoke hibride i obrnuto, što ukazuje da je za nasleđivanje ove osobine presudno aditivno delovanje gena. Ovu činjenicu potvrđuju rezultati korelacije između osobine visine populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za osobinu visna biljke (efekat populacije u *test cross* hibridu); izračunate primenom *Pearson*-ovog koeficijenta linearne korelacije (Snedecor i Cochran, 1967) (Grafikon 7). Visok koeficijent korelacije ($r=0,9018$) ukazuje na veoma jak stepen linearne povezanosti tih parametara.



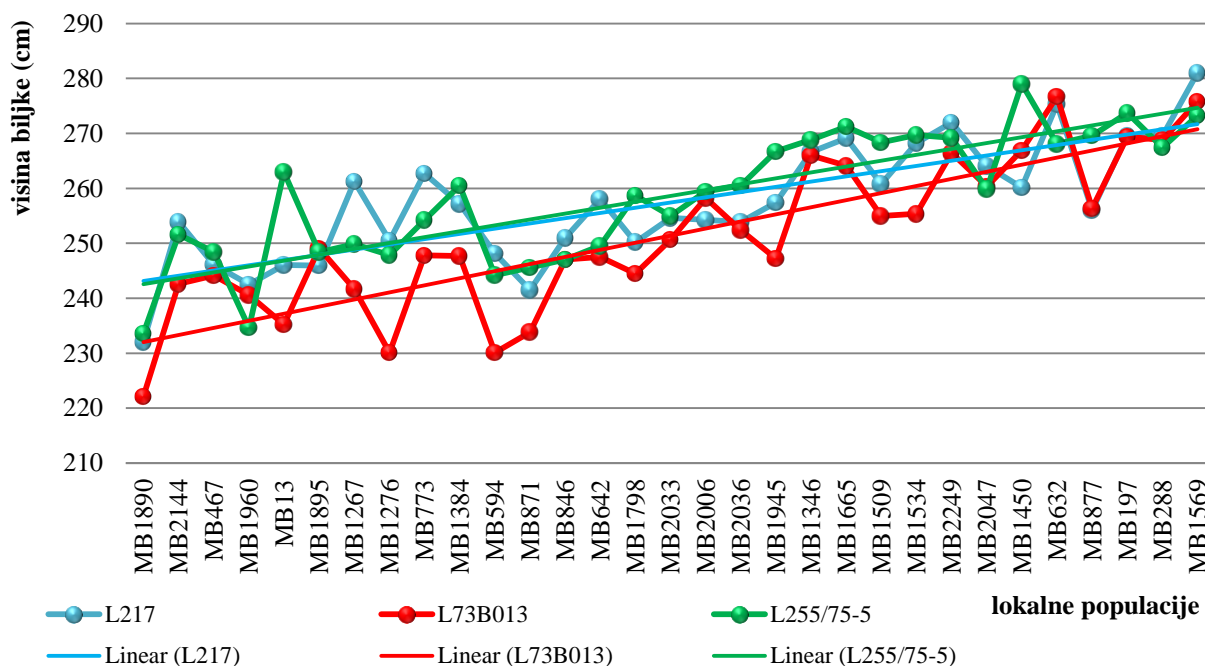
Grafikon 7. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu visina biljke

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 11), primetno je da se efekti testera L255/75-5 i L217 za visinu biljke do vrha metlice ne razlikuju (258,6 i 257,4 cm, respektivno) i da u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daju veće visine hibrida u poređenju sa testerom L73B013 koji daje statistički značajno niže hibride (251,1; $p \leq 0,05$).

Tabela 11. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za visinu biljke do vrha metlice ($LSD = 1,624$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za visinu biljke do vrha metlice (cm)				
A	••	L255/75-5	258,6	L217	257,4
B	•	L73B013	251,4		

Na Grafikonu 8 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za visinu biljke do vrha metlice. Populacije su poređane po homogenim grupama, gde se može uočiti pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Na ovom grafikonu se takođe jasno uočava uticaj testera-oca na visinu biljke hibrida. Linija trenda testera L73B013 je najniža, što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje najniže hibride, dok se linije trenda testera L217 i L255/75-5 gotovo preklapaju, što ukazuje da hibridi ova dva testera i populacija ispoljavaju slične prosečne visine, ali da su one značajno veće od visina hibrida testera L73B013.



Grafikon 8. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu visina biljke

6.1.2. Visina klipa

Opšti prosek za osobinu visina klipa *test cross* hibrida iznosio je 101,842 cm. Iz Tabele 12 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,083 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za visinu klipa. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 8,87%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu visina klipa (Tabela 12).

Tabela 12. Tabela analize varijanse za osobinu visina klipa

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	87205,17	14534,195	177,9469 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	2894,145	413,449	5,062 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	11668,054	5834,027	71,4279 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	8782,536	731,878	8,9606 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	85310,599	2843,687	34,8162 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	27580,958	153,228	1,876 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	12641,831	210,697	2,5796 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	33392,506	92,757	1,1357 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	52600,07	81,677	
UKUPNO	N-1	1301	322075,869		CV = 8.87%

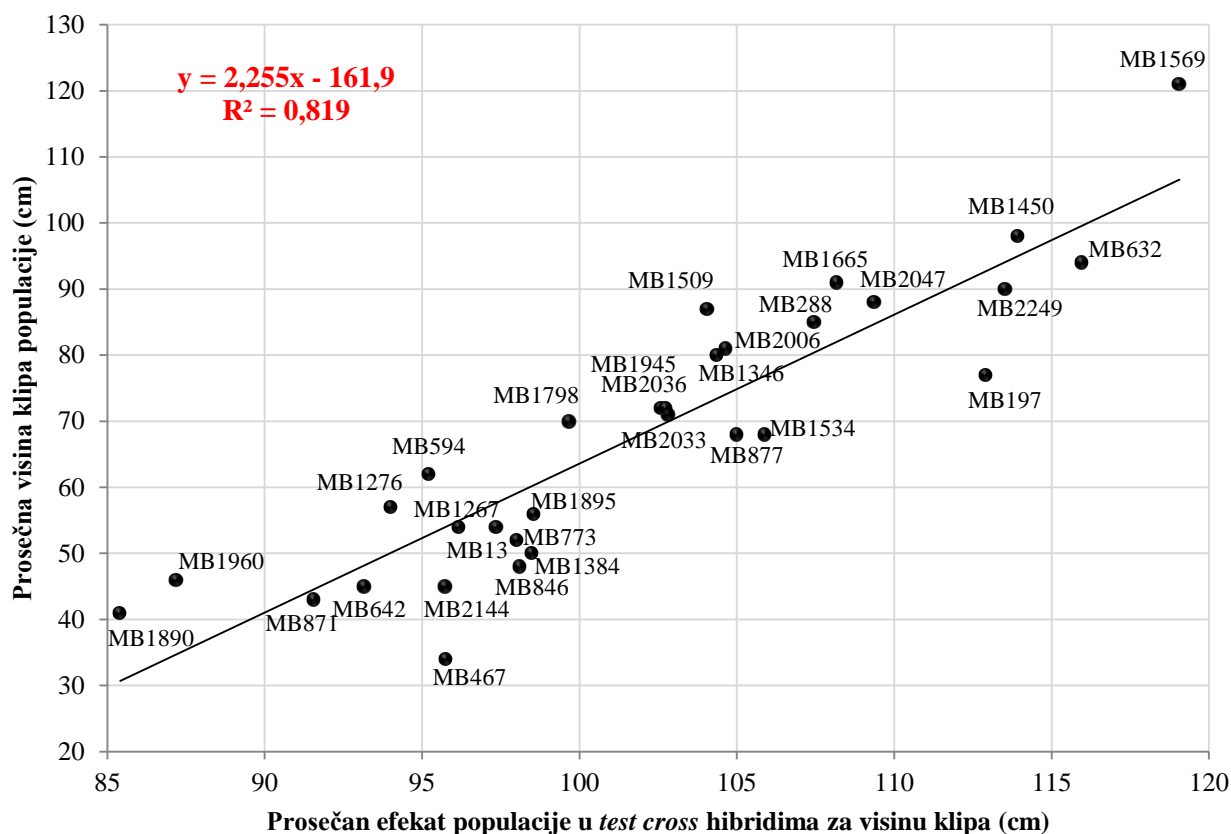
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p = 0,05$), utvrđeno je da populacije MB1569 i MB632 u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveću visinu klipa *test cross*

hibrida (119,1 i 116,0 cm, respektivno). U ukrštanjima sa sva tri testera veliku visinu klipa u hibridima unose i populacije MB1450, MB2249, MB197 (Tabela 13). Sve pomenute populacije su populacije zubana koje pripadaju osmoj (MB2249) i jedanaestoj (MB1450, MB197) grupi koja je najbližnja zubanima Južne Amerike (Tabela 1).

Tabela 13. Značajnost razlika efekta majke (populacija) u *test cross* hibridima za visinu gornjeg klipa ($LSD = 3,873$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za visinu klipa (cm)								
A	•	MB1569	119,1						
AB	•	MB632	116,0						
B	••	MB1450	113,9	MB2249	113,5				
BC	•	MB197	112,9						
CD	•	MB2047	109,4						
DE	•	MB1665	108,2						
DEF	•	MB288	107,5						
DEFG	•	MB1534	105,9						
EFG	•••	MB877	105,0	MB2006	104,7	MB1346	104,4		
FG	•	MB1509	104,1						
GH	•••	MB2033	102,8	MB1945	102,8	MB2036	102,6		
HI	•	MB1798	99,7						
IJ	••••	MB1895	98,6	MB1384	98,5	MB846	98,1	MB773	98,0
IJK	•	MB13	97,4						
IJKL	•	MB1267	96,2						
JKL	••	MB467	95,7	MB2144	95,7				
JKLM	•	MB594	95,2						
KLM	•	MB1276	94,0						
LM	•	MB642	93,2						
M	•	MB871	91,6						
N	••	MB1960	87,2	MB1890	85,4				

Posmatrajući sa druge strane, populacije MB1890 i MB1960 u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride sa najmanjom visinom klipa (85,4 i 87,2 cm, respektivno), koje se statistički značajno ne razlikuju. Pored ovih populacija, hibride sa nisko pozicioniranim klipom u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije MB871, MB642, MB1276 i MB594. Ove populacije pripadaju ranim populacijama druge (MB594), četvrte (MB871, MB1276) i pete (MB642) homogene grupe, koje su po tipu zrna tvrdunci ili slični tvrduncima, sa izuzetkom populacije MB1276 koja je u tipu zubana. Ukoliko se uporede visine klipova populacija *per se* (Tabela 1) i odgovarajuće vrednosti njihove opšte kombinacione sposobnosti, uočava se da populacije sa izrazito niskim klipovima *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera unose u hibride osobinu nisko pozicioniran klip i obrnuto. Postojanje linearne zavisnosti između osobine visina klipa populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS potvrđuje visok koeficijent korelacije ($r=0,9051$), što ukazuje da je za nasleđivanje visine biljke do klipa dominantan aditivni uticaj gena (Grafikon 9).



Grafikon 9. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu visina klipa

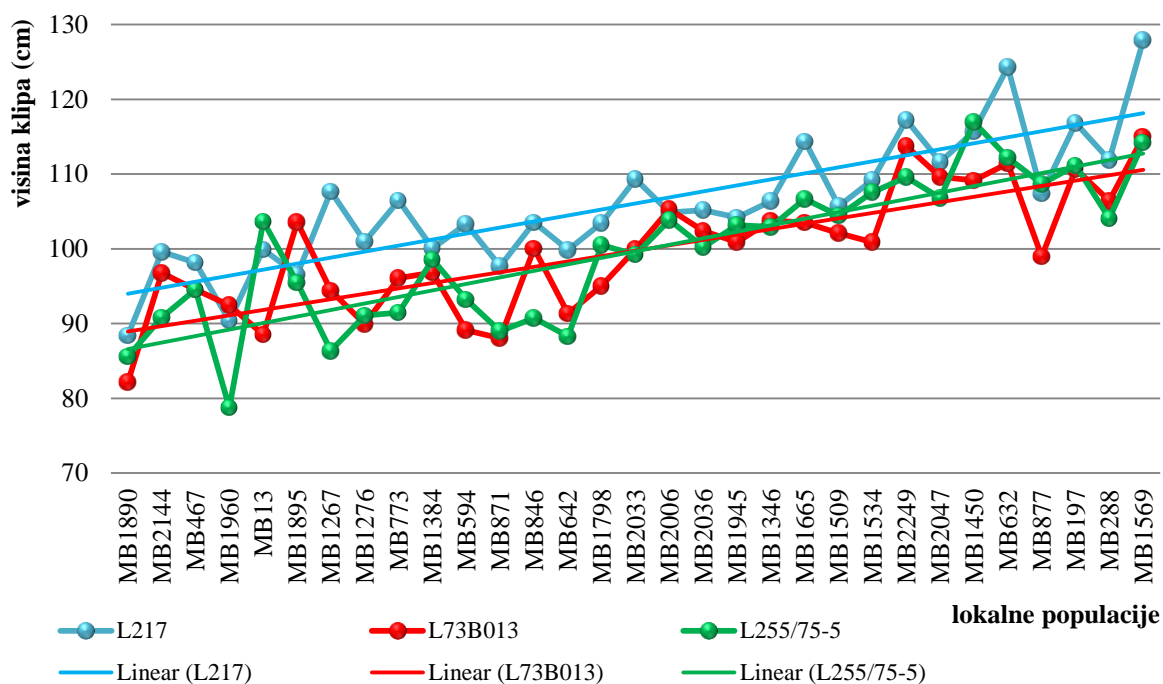
Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 14), može se videti da se efekti testera L73B013 i L255/75-5 za visinu klipa ne razlikuju (99,77 i 99,68 cm, respektivno) i da u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daju niže vrednosti visine biljke do klipa u hibridima, u poređenju sa testerom L217 koji daje hibride sa statistički značajno većom visinom klipa (106,1; $p \leq 0,05$).

Tabela 14. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za visinu klipa ($LSD = 1,205$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za visinu klipa (cm)		
A	•	L217	106,1	
B	••	L73B013	99,8	L255/75-5 99,7

Na Grafikonu 10 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za visinu gornjeg klipa. Populacije su poređane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Može se konstatovati da populacije kraćeg vegetacionog perioda i nižih biljaka imaju i nisko pozicionirane klipove, dok se sa porastom visine biljke menja i pozicija gornjeg klipa. Utvrđen je uticaj testera-oca na visinu gornjeg klipa hibrida, što je prikazano na Grafikonu 10. Linija trenda testera L217 je najviša što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa većom visinom gornjeg klipa, dok se linije trenda testera L73B013 i L255/75-5 gotovo preklapaju, što ukazuje da hibridi ova dva testera i

populacija ispoljavaju slične prosečne visine gornjeg klipa, ali da su one značajno niže od visine klipova hibrida nastalih iz ukrštanja populacija sa testerom L217.



Grafikon 10. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu visina klipa

6.1.3. Odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice

Opšti prosek za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice *test cross* hibrida iznosio je 39,039%. Iz Tabele 15 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacije (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,0620 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 3,88%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice (Tabela 15).

Tabela 15. Tabela analize varijanse za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	1704,044	284,007	123,5288	**
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	88,539	12,648	5,5014	**
Efekat faktora A (otac)	k-1	564,831	282,415	122,8363	**
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	260,638	21,72	9,447	**
Efekat faktora B (majka)	s-1	1208,357	40,279	17,5191	**
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	649,286	3,607	1,5689	**
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	377,741	6,296	2,7383	**
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	953,477	2,649	1,152	NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	1480,633	2,299		
UKUPNO	N-1	7287,547			CV = 3,88%

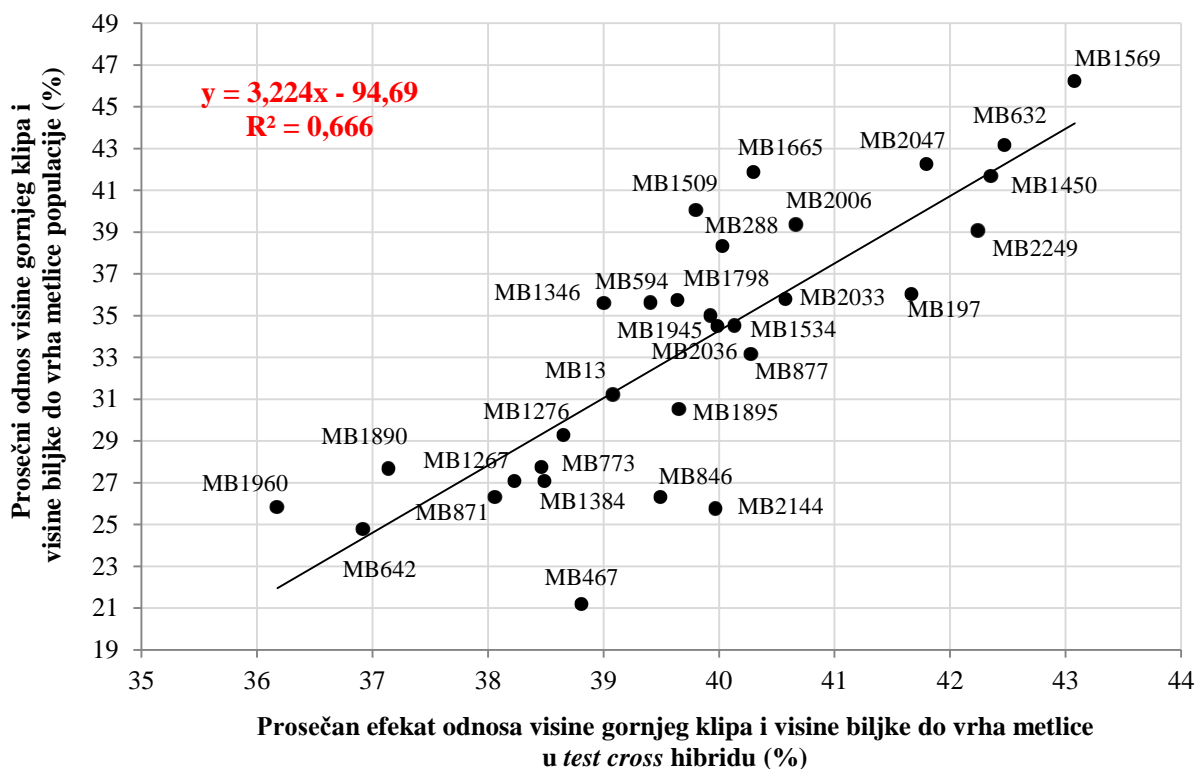
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da najveći odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice u ukrštanjima sa sva tri testera imaju *test cross* hibridi u kojima učestvuje populacija MB1569 (41,01%), a zatim MB632 (40,66%), MB1450 (40,60%) i MB2249 (40,52%), koji se međusobno statistički značajno ne razlikuju. Međutim, kako je u proizvodnji kukuruza svojstvo od interesa mali odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, može se reći da takav najmanji odnos imaju *test cross* hibridi u kojima učestvuju populacije četvrte MB1960 (36,94%), pete MB642 (37,40) i prve MB1890 (37,53%) homogene grupe, a koje se statistički značajno ne razlikuju (Tabela 16).

Tabela 16. Značajnost razlika efekta majke (populacija) u *test cross* hibridima za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice ($LSD = 0,6497$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice (%)
A	● MB1569 41,01
AB	●●● MB632 40,66 MB1450 40,60 MB2249 40,52
B	● MB2047 40,27
BC	● MB197 40,20
CD	● MB2006 39,61
CDE	● MB2033 39,55
DEF	●● MB1665 39,39 MB877 39,38
DEFG	● MB2036 39,30
DEFGH	●●● MB288 39,24 MB1534 39,21 MB1945 39,17
DEFGHI	● MB1509 39,11
DEFGHIJ	●● MB1798 39,01 MB1895 39,01
EFGHIJK	● MB846 38,91
FGHIJK	● MB594 38,87
GHIJKL	● MB13 38,68
HIJKL	● MB1346 38,64
IJKL	● MB467 38,52
JKL	● MB1276 38,43
KL	●● MB1384 38,33 MB773 38,31
L	● MB2144 38,18
LM	●● MB1267 38,16 MB871 38,08
MN	● MB1890 37,53
N	●● MB642 37,40 MB1960 36,94

Takođe, treba napomenuti da pored navedenih, dobri opšti kombinatori koji unose mali odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice su i populacije istog ranga MB871 četvrte i MB1267 druge homogene grupe, a koje se statistički značajno ne razlikuju od populacije MB1890. Sve pomenute populacije su ranostasne, uglavnom tipa tvrdunaca i polutvrdunaca (MB1890 i MB871), ali i tipa poluzubana do zubana (MB642, MB1960 i MB1267) (Tabela 1). Ukoliko je oplemenjivački cilj da se dobije najpoželjniji odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 16). Ukoliko se uporede odnosi visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice populacija *per se* (Tabela 1) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti, uočava se da populacije sa izrazito malim odnosom *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera unose u hibride i procentualno mali odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, kao i obrnuto. Postojanje linearne zavisnosti između osobine visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice populacija *per se* i njihovih odgovarajućih vrednosti OKS potvrđuje visok

koeficijent korelacije ($r=0,8165$), što ukazuje da je za nasleđivanje ovakvog odnosa preovlađujući aditivni uticaj gena (Grafikon 11).



Grafikon 11. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice

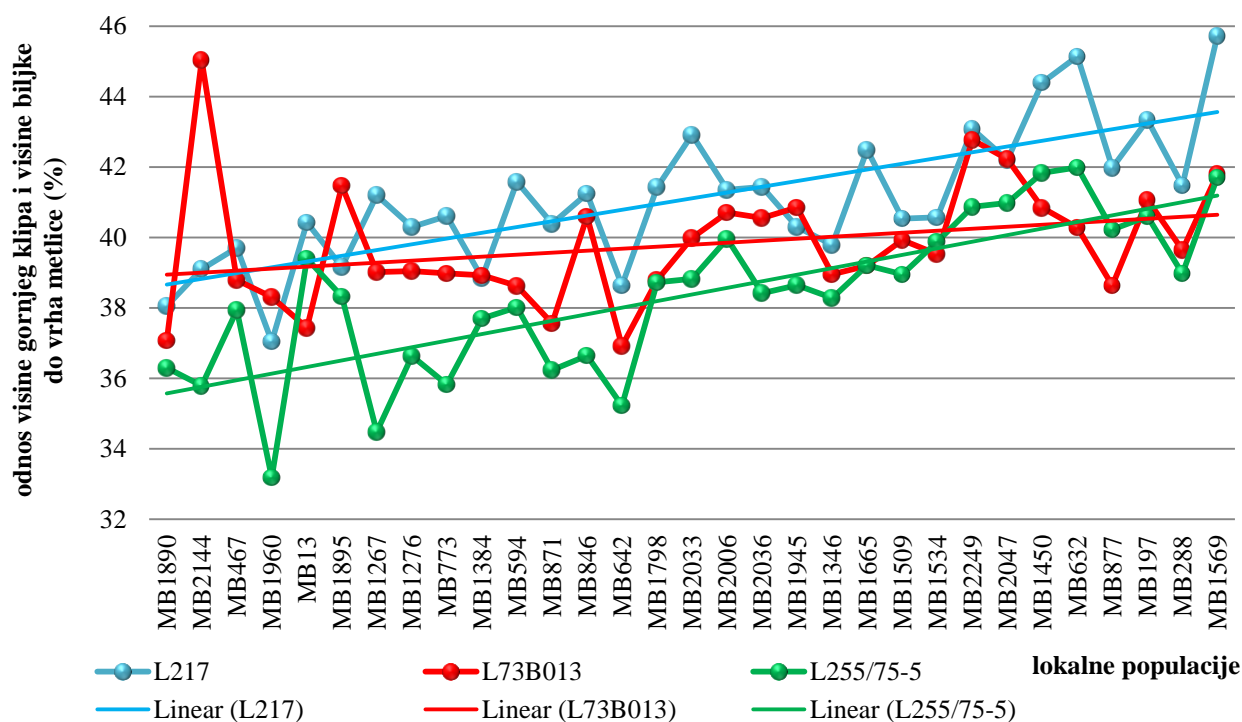
Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima, efekti testera L217 (39,87%), L73B013 (39,00%) i L255/75-5 (38,25%) se statistički značajno razlikuju (Tabela 17). Može se zaključiti da tester L217 daje potomstvo sa najvećim odnosom, a L255/75-5 daje hibride sa statistički značajno manjim odnosom ($p \leq 0,05$) visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama.

Tabela 17. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice ($LSD = 0,2021$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice (%)
A ●	L217 39,87
B ●	L73B013 39,00
C ●	L255/75-5 38,25

Na Grafikonu 12 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa testerima L217 i L255/75-5, dok je trend nešto blaži sa testerom L73B013. Takođe, utvrđen je uticaj testera-oca na odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, pogotovo kod populacija MB2144, MB1960, MB1267, MB1276, MB773, MB632 itd. Linija trenda testera L217 je najviša što ukazuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa najvećim odnosom visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice, dok linija trenda testera L255/75-5 potvrđuje da ovaj otac daje hibride sa najmanjim i najpoželjnijim odnosom.

Linija trenda testera L73B013 ima najpovoljniji odnos za ovu osobinu kod populacija u višim homogenim grupama i to: MB632, MB877, MB197, MB288 i MB1569 (Grafikon 12).



Grafikon 12. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu odnos visine biljke do gornjeg klipa i visine biljke do vrha metlice

6.1.4. Dužina lista

Opšti prosek za osobinu dužina lista *test cross* hibrida iznosio je 84,315 cm. Iz Tabele 18 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,289 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za dužinu lista. Koeficijent varijacije ogleda za ovu osobinu iznosio je 4,11%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu dužina lista (Tabela 18).

Tabela 18. Tabela analize varijanse za osobinu dužina lista

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	3387,247	564,541	46,9904 **
Ponavlanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	412,219	58,888	4,9017 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	1461,915	730,957	60,8423 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	598,868	49,906	4,154 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	4934,418	164,481	13,6908 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	4242,335	23,569	1,9618 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	1418,274	23,638	1,9675 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	4550,246	12,64	1,0521 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	7736,996	12,014	CV = 4,11%
UKUPNO	N-1	1301	28742,518		

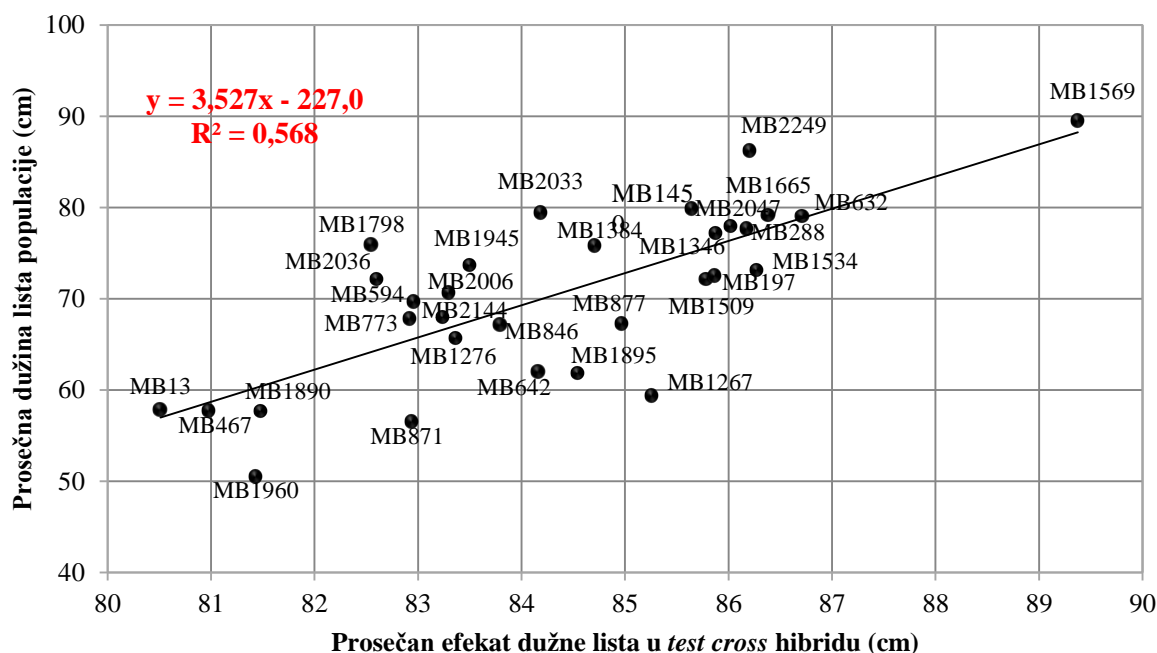
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB1569 u ukrštanjima sa sva tri testera daje najveću dužinu listova *test cross* hibrida (89,38 cm). Ukoliko bi dužina lista bila svojstvo od interesa može se reći da pored populacije MB1569, koja je najbolji opšti kombinator za dužinu lista, izvore za ovo svojstvo možemo tražiti i među populacijama MB632, MB1665, MB1534, MB2249, MB288, MB2047, MB1346, MB197, MB1509, MB1450 i MB1267, koje su sledeće po rangu i čije se OKS za dužinu lista međusobno statistički značajno ne razlikuju. Sve pomenute populacije su populacije zubana i poluzubana koje pripadaju osmoj (MB632, MB1665, MB2249), devetoj (MB2047), desetoj (MB1569 i MB1346) i jedanaestoj (MB288, MB197, MB1509, MB1450) homogenoj grupi koju predominantno čine lokalne populacije sa prostora Panonske nizije i područja Hrvatske. Izuzetak je populacija MB1534 (Domaći beli iz okoline Majdanpeka) koja pripada četvrtoj homogenoj grupi, a po tipu zrna spada u tvrduce, kao i populacija MB1267 (Belo seme iz okoline Cetinja), koja pripada drugoj homogenoj grupi, a po tipu zrna je prelazni (intermedijarni) tip (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje dužine listova biljke, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 19).

Tabela 19. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za dužinu lista (cm) ($LSD = 1,485$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za dužinu lista (cm)				
A	•	MB1569	89,38			
B	•	MB632	86,72			
BC	•••	MB1665	86,39	MB1534 86,27	MB2249 86,21	
BCD	•	MB288	86,18			
BCDE	••••	MB2047	86,02	MB1346 85,88	MB197 85,87	MB1509 85,79
BCDEF	•	MB1450	85,65			
BCDEFG	•	MB1267	85,26			
CDEFGH	•	MB877	84,97			
DEFGHI	•	MB1384	84,71			
EFGHI	•	MB1895	84,54			
FGHIJ	••	MB2033	84,19	MB642 84,16		
GHIJK	•	MB846	83,80			
HIJK	•	MB1945	83,50			
IJK	•••	MB1276	83,37	MB2006 83,30	MB2144 83,24	
JKL	•••	MB594	82,96	MB871 82,94	MB773 82,92	
KLM	••	MB2036	82,60	MB1798 82,55		
LMN	•	MB1890	81,48			
MN	•	MB1960	81,44			
N	••	M467	80,98	MB13 80,51		

Posmatrajući populacije iz treće homogene grupe MB13 i MB467, u ukrštanjima sa sva tri testera one daju hibride sa najmanjom dužinom listova (80,51 cm za MB13 i 80,98 cm za MB467) i statistički se značajno ne razlikuju od populacija MB1960 i MB1890. Navedene ranostasne populacije su po tipu zrna tvrdunci prve homogene grupe (MB13 - Žuti jarik je sa prostora Crne Gore, MB467 – Žuti tvrdunac je sa prostora Bosne i Hercegovine i MB1890 – Domaći kukuruz je

sa prostora Hrvatske), dok se u trećoj homogenoj grupi našla populacija MB1960 – Domaći crveni sa prostora Bosne i Hercegovine, po tipu zrna prelazni (intermedijarni) tip. Ako se uporede dužine listova populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti uočava se da populacije sa izrazito dugim listovima *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera unose u hibride osobinu dugog lista i obrnuto, ukazujući da je za nasleđivanje dužine lista presudno aditivno delovanje gena. Jak stepen linearne zavisnosti između osobine dužina lista populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS potvrđuje visok koeficijent korelacije ($r=0,7539$) (Grafikon 13).



Grafikon 13. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu dužina lista

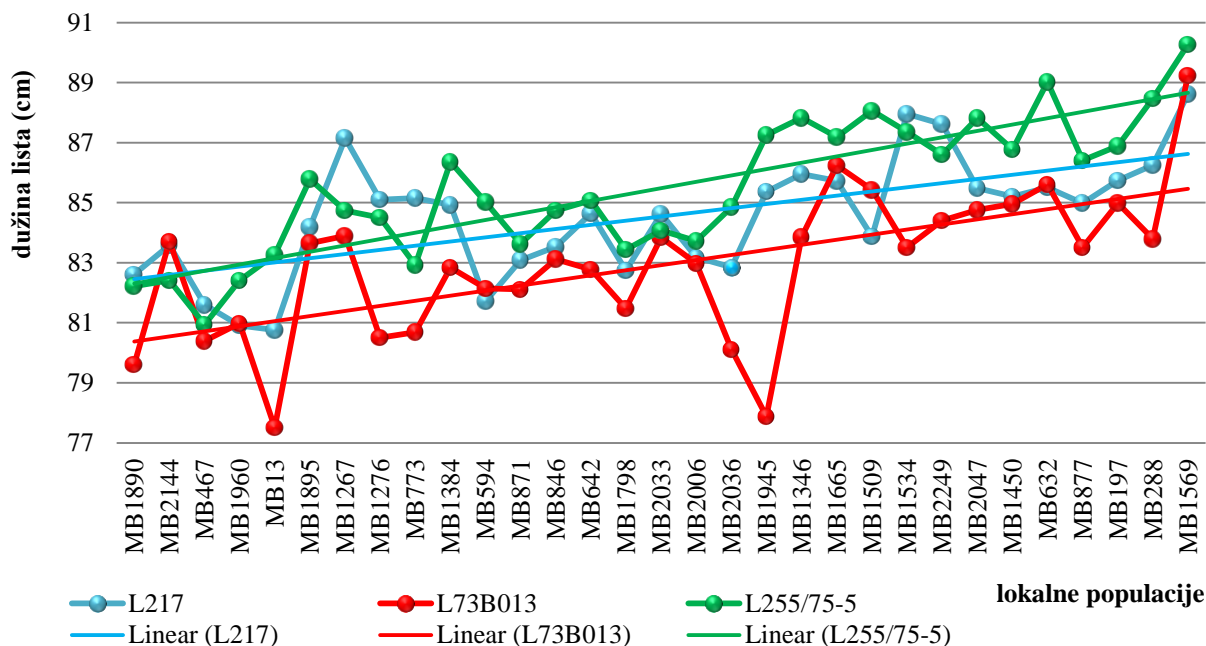
Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 20), može se videti da se svi efekti testera L255/75-5, L217 i L73B013 za dužinu lista statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L255/75-5 daje hibride najdužih listova (85,49 cm), u poređenju sa testerima L217 (84,54; $p \leq 0,05$) i L73B013 (82,92; $p \leq 0,05$).

Tabela 20. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za dužinu lista (cm) ($LSD = 0,0863$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za dužinu lista (cm)
A •	L255/75-5 85,49
B •	L217 84,54
C •	L73B013 82,92

Na Grafikonu 14 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za dužinu lista. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Može se konstatovati da populacije kraćeg vegetacionog perioda i nižih biljaka imaju i kraće listove, dok se sa porastom visine biljke menja i dužina listova. Takođe je potvrđen i uticaj testera-oca na dužinu listova hibrida. Linija

trenda testera L255/75-5 je najviša, što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa dužim listovima, dok linije trenda testera L217 i L73B013 ispoljavaju značajno kraću dužinu listova.



Grafikon 14. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu dužina lista

6.1.5. Širina lista

Opšti prosek za osobinu širina lista *test cross* hibrida iznosio je 9,470 cm. Iz Tabele 21 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije i interakcije efekta oca-testera i spoljašnje sredine) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev dvostruke interakcije (spoljašnja sredina \times majka) ($p = 0,293 > 0,05$) i efekta oca-testera \times efekat majke-testera ($p = 0,056 > 0,05$), kao i trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,858 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za širinu lista. Koficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 6,83% ukazujući na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu širina lista (Tabela 21).

Tabela 21. Tabela analize varijanse za osobinu širina lista

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	153,657	25,609	61,1481 **
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	15,58	2,226	5,3144 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	47,905	23,952	57,1915 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	59,817	4,985	11,9021 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	114,549	3,818	9,117 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	80,201	0,446	1,0639 NZ
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	33,323	0,555	1,3261 NZ
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	136,272	0,379	0,9038 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	269,714	0,419	
UKUPNO	N-1	1301	911,016		CV = 6,83%

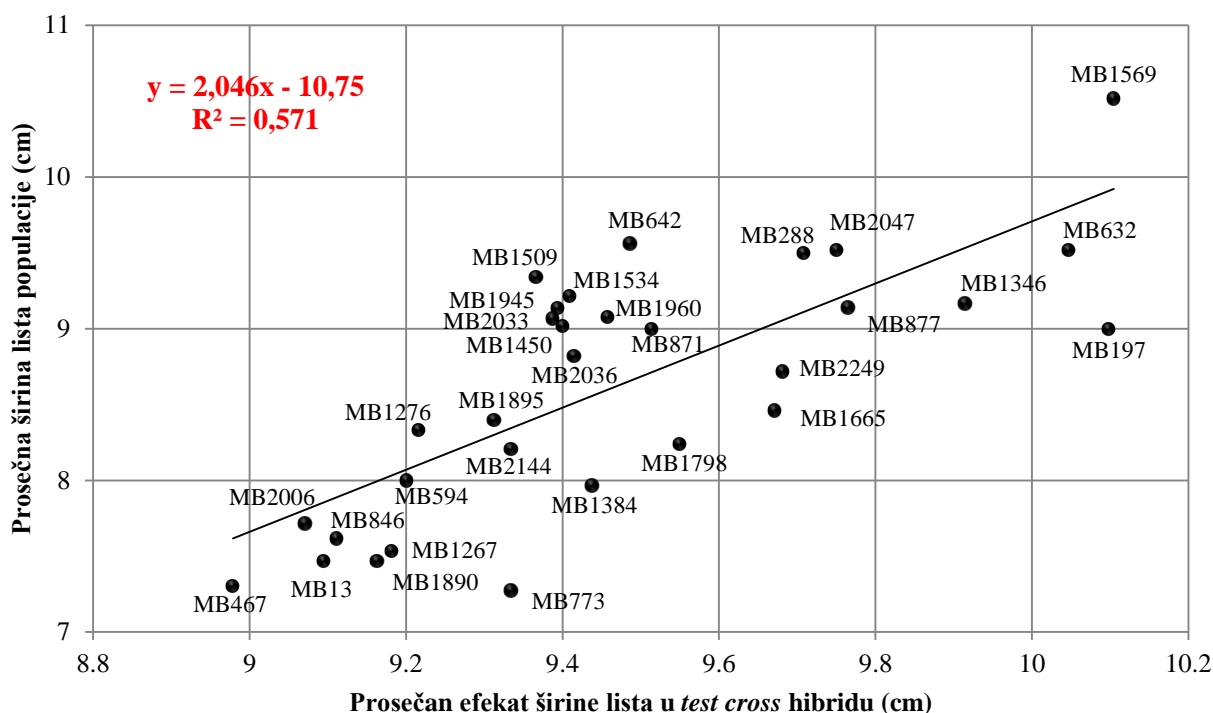
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacije MB1569, MB197, MB632 i MB1346 u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveću širinu lista *test cross* hibrida (10,10 cm, 10,10 cm, 10,05 cm i 9,91 cm, respektivno). Odnosno, ukoliko bi širina lista bila svojstvo od interesa može se reći da su populacije MB1569, MB197, MB632 i MB1346 najbolji opšti kombinatori za širinu lista (OKS). Takođe, hibride sa širokim listovima u ukrštanjima sa sva tri testera daju populacije MB877, MB2047, MB288, MB2249 i MB1665 čije se vrednosti OKS za širinu lista ne razlikuju od vrednosti koje postiže populacija MB1346, pa i one mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 22). Sve pomenute populacije su populacije zubana koje pripadaju osmoj (MB632, MB2249), desetoj (MB1569, MB1346) i jedanaestoj (MB197, MB288) homogenoj grupi, osim populacije MB877 - lokalnog naziva Čađo, poreklom iz Čapljinia u Bosni i Hercegovini, a koja je intermedijaran (prelazni) tip desete homogene grupe i populacije MB2047 poreklom iz Hrvatske (deveta homogena grupa) i MB1665 poreklom iz Severne Makedonije (osma homogena grupa), koje su tipa poluzubana (Tabela 1).

Tabela 22. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hybridima za širinu lista (cm) ($LSD = 0,2774$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hybridima za širinu lista (cm)						
A	•••	MB1569	10,10	MB197	10,10	MB632	10,05
AB	•	MB1346	9,91				
BC	•	MB877	9,76				
BCD	•	MB2047	9,75				
BCDE	•	MB288	9,71				
BCDEF	•	MB2249	9,68				
BCDEFG	•	MB1665	9,67				
CDEFGH	••	MB1798	9,55	MB871	9,51		
DEFGHI	•	MB642	9,49				
EFGHIJ	•	MB1960	9,46				
EFGHIJK	•	MB1384	9,44				
FGHIJK	••	MB2036	9,41	MB1534	9,41		
GHIJK	•	MB2033	9,40				
HIJK	•	MB1945	9,39				
HIJKL	•	MB1450	9,39				
HIJKLM	•	MB1509	9,37				
HIJKLMN	•••	MB773	9,33	MB2144	9,33	MB1895	9,31
IJKLMNO	•	MB1276	9,22				
JKLMNO	••	MB594	9,20	MB1267	9,18		
KLMNO	•	MB1890	9,16				
LMNO	•	MB846	9,11				
MNO	•	MB13	9,09				
NO	•	MB2006	9,07				
O	•	MB467	8,98				

Sa druge strane, populacija MB467 treće homogene grupe, u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjom širinom listova (8,98 cm), a od nje se statistički značajno ne razlikuju i efekti populacija MB2006, MB13, MB846, MB1890, MB1267, MB594 i MB1276. Navedene populacije pripadaju ranim populacijama prve (MB1890), druge (MB594, MB1267) i treće (MB13,

MB467) homogene grupe, a koje su po tipu zrna tvrdunci, osim MB1267 koja je intermedijaran tip i četvrte homogene grupe (MB1276, MB846), od kojih je MB846 po tipu zrna intermedijaran, a populacija MB1276 u tipu zubana. Poredeći širinu listova populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti uočava se da populacije širokih listova *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride širokih listova i obrnuto, što ukazuje da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena. Ovu činjenicu potvrđuju rezultati korelacije između osobine širina lista populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za osobinu širina lista (efekat populacije u *test cross* hibridu), izračunate primenom *Pearson*-ovog koeficijenta linearne korelacije (Grafikon 15). Visok koeficijent korelacije ($r=0,7563$) ukazuje na jak stepen linearne zavisnosti tih parametara.



Grafikon 15. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu širina listova

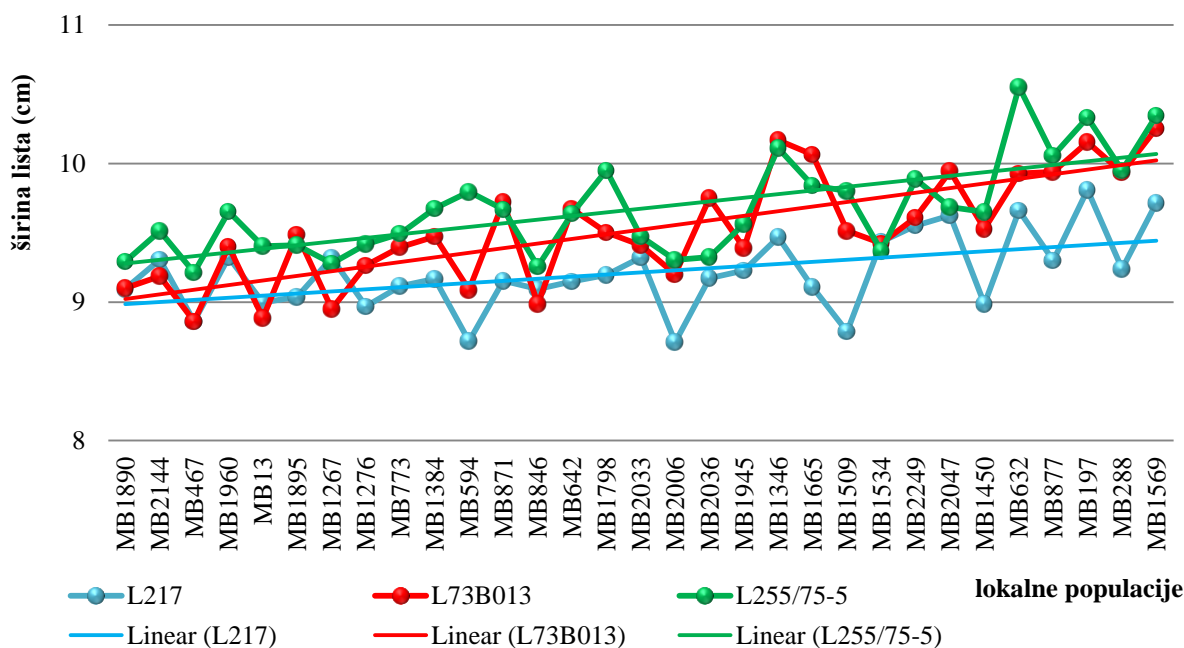
Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 23) vidi se da svi efekti, sva tri testera za širinu lista, statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L255/75-5 daje hibride najširih listova (9,67 cm), dok testeri L73B013 (9,52; $p \leq 0,05$) i L217 (9,21; $p \leq 0,05$) daju hibride statistički značajno užih listova.

Tabela 23. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za širinu lista (cm) ($LSD = 0,0863$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za širinu lista (cm)
A ●	L255/75-5 9,67
B ●	L73B013 9,52
C ●	L217 9,21

Na Grafikonu 16 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za širinu lista. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera, kao i da se na najvećem broju hibrida

širina lista kreće između 9 i 10 cm. U ovom slučaju takođe je potvrđen uticaj testera-oca na širinu lista hibrida. Linija trenda testera L217 je najniža što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride najužih listova, dok L255/75-5 u ukrštanjima sa populacijama daje hibride najšireg lista.



Grafikon 16. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu širina lista

6.1.6. Broj listova iznad klipa

Opšti prosek za osobinu broj listova iznad klipa *test cross* hibrida iznosio je 6,177 listova. Iz Tabele 24 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,964 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za broj listova iznad klipa. Koeficijent varijacije ogleda za ovu osobinu iznosio je 6,00%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu broj listova iznad klipa (Tabela 24).

Tabela 24. Tabela analize varijanse za osobinu broj listova iznad klipa

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	52,827	8,805	64,1636 **
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	2,695	0,385	2,8059 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	12,42	6,21	45,2575 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	13,835	1,153	8,402 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	64,283	2,143	15,6155 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	43,556	0,242	1,7634 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	15,668	0,261	1,903 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	41,216	0,114	0,8344 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	88,37	0,137	
UKUPNO	N-1	1301	334,871		CV = 6,00%

Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB1569 u ukrštanjima sa sva tri testera daje najveći broj listova iznad klipa *test cross* hibrida (6,719 listova). Odnosno, ukoliko bi broj listova iznad klipa bilo svojstvo od interesa može se reći da je populacija MB1569 najbolji opšti kombinator, odnosno, ima najbolju OKS za broj listova iznad klipa.

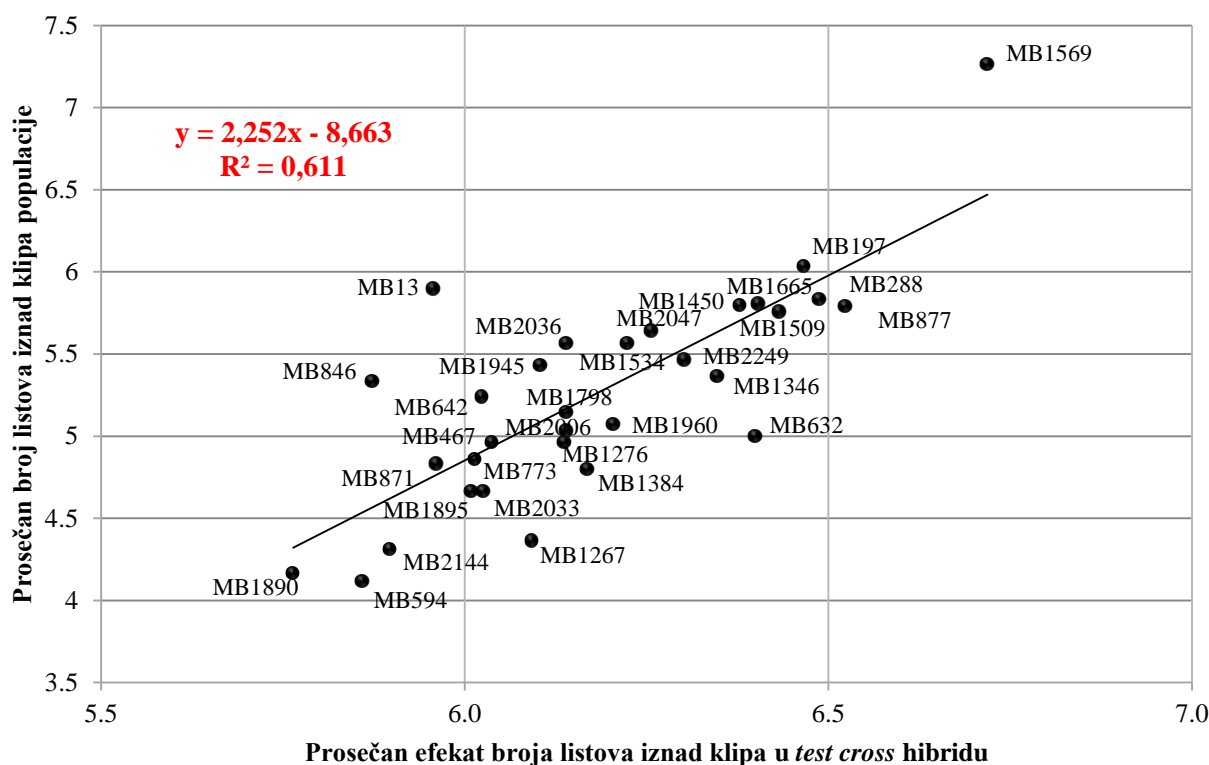
Tabela 25. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za broj listova iznad klipa ($LSD = 0,1586$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za broj listova iznad klipa			
A	•	MB1569	6,719		
B	•	MB877	6,524		
BC	••	MB288	6,488	MB197	6,467
BCD	•	MB1509	6,433		
BCDE	••	MB1665	6,405	MB632	6,400
BCDEF	•	MB1450	6,379		
CDEFG	•	MB1346	6,348		
DEFGH	•	MB2249	6,302		
EFGHI	•	MB2047	6,257		
FGHIJ	•	MB1534	6,224		
GHIJ	•	MB1960	6,205		
HIJK	•	MB1384	6,169		
IJKL	••••	MB2036	6,140	MB1798	6,140
				MB2006	6,140
				MB1276	6,138
IJKLM	•	MB1945	6,105		
JKLM	•	MB1267	6,093		
KLMN	•	MB467	6,038		
KLMNO	••	MB2033	6,026	MB642	6,024
KLMNOP	•	MB773	6,014		
LMNOP	•	MB1895	6,010		
MNOP	••	MB871	5,962	MB13	5,957
NOPQ	•	MB2144	5,898		
OPQ	•	MB846	5,874		
PQ	•	MB594	5,860		
Q	•	MB1890	5,764		

Takođe, veći broj listova iznad klipa kod hibrida u ukrštanjima sa sva tri testera, daju populacije MB877, MB288, MB197, MB1509, MB1665, MB632 i MB1450 (Tabela 25). Osim populacije MB877 koja je intermedijarnog (prelaznog) tipa zrna, sve pomenute populacije su populacije zubana, koje pripadaju osmoj (MB1665, MB632), desetoj (MB1569, MB877) i jedanaestoj (MB288, MB197, MB1509, MB1450) homogenoj grupi (Tabela 1).

Sa druge strane, populacija MB1890 u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjim brojem listova iznad klipa (5,764), a od nje se statistički značajno ne razlikuju populacije MB594, MB846 i MB2144. Ove populacije pripadaju ranim populacijama prve (MB1890), druge (MB594) i četvrte (MB846, MB2144) homogene grupe koje su po tipu zrna tvrdunci ili slični tvrduncima, sa izuzetkom populacije MB846 intermedijarnog (prelaznog) tipa. Ukoliko se uporede broj listova iznad klipa populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti, uočava se da populacije sa velikim brojem listova iznad klipa *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride sa znatno većim brojem listova i obrnuto. Ovu činjenicu potvrđuje visok koeficijent korelacije ($r=0,7818$) između osobine broj listova iznad klipa populacija

per se i odgovarajućih vrednosti OKS, ukazujući da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena (Grafikon 17).



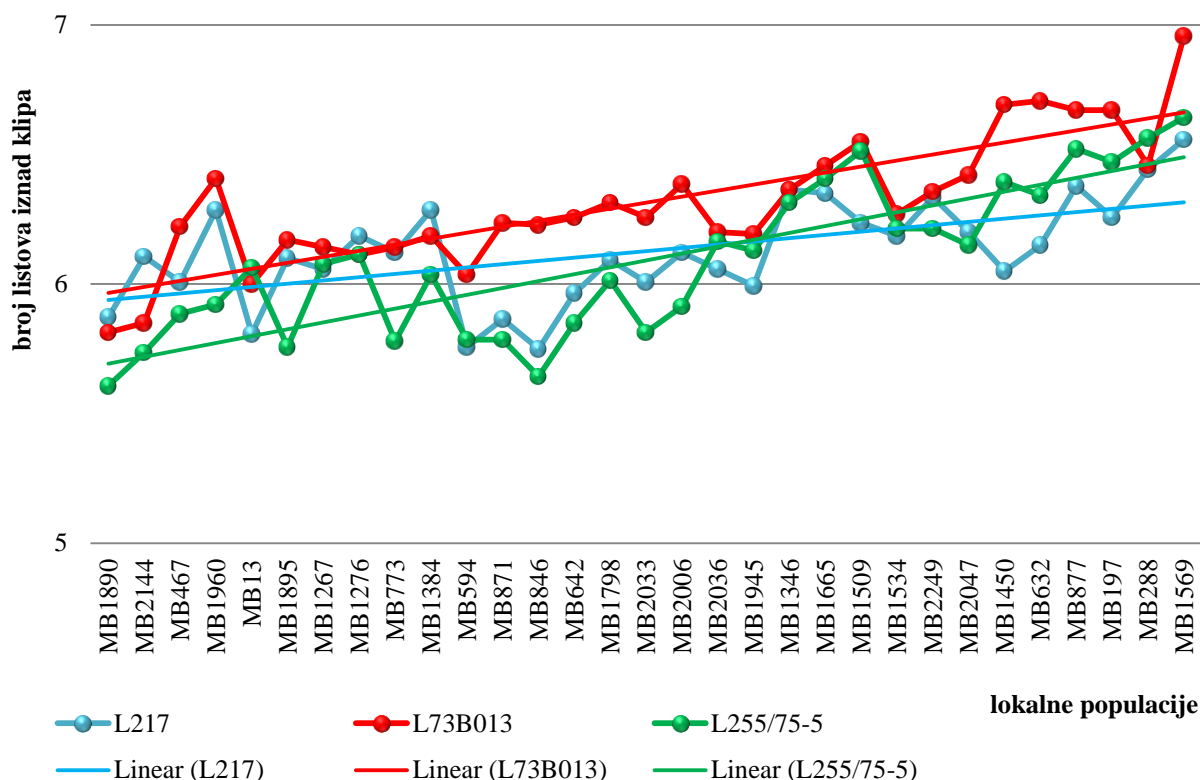
Grafikon 17. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu broj listova iznad klipa

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 26), vidi se da efekat testera L73B013 u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje najveći broj listova iznad klipa (6,314; $p \leq 0,05$), u poređenju sa testerima L217 i L255/75-5 koji se međusobno statistički značajno ne razlikuju (6,127 i 6,091, respektivno) i u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama unose manji broj listova iznad klipa.

Tabela 26. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za broj listova iznad klipa ($LSD = 0,0493$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za broj listova iznad klipa			
A	•	L73B013	6,314		
B	••	L217	6,127	L255/75-5	6,091

Na Grafikonu 18 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za broj listova iznad klipa. Populacije su poređane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Na ovom grafikonu se takođe potvrđuje uticaj testera-oca na broj listova iznad klipa kod hibrida. Linija trenda testera L73B013 je viša što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa većim brojem listova iznad klipa, dok se linije trenda testera L217 i L255/75-5 gotovo preklapaju, što ukazuje da hibridi ova dva testera i populacija ispoljavaju sličan prosečan broj listova iznad klipa.



Grafikon 18. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu broj listova iznad klipa

6.1.7. Dužina klipa

Opšti prosek za osobinu dužina klipa *test cross* hibrida iznosio je 17,980 cm. Iz Tabele 27 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove dvostruke interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) koja je statistički značajna ($p = 0,016 > 0,01 \leq 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija na nivou značajnosti za dužinu klipa. Koeficijent varijacije ogleda za ovu osobinu iznosio je 5,85%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu dužina klipa (Tabela 27).

Tabela 27. Tabela analize varijanse za osobinu dužina klipa

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost		
Spoljašnja sredina	n-1	6	1202,831	200,472	181,2766	**
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	22,162	3,166	2,8629	**
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	111,277	55,639	50,3113	**
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	118,348	9,862	8,918	**
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	751,112	25,037	22,6398	**
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	502,278	2,79	2,5232	**
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	121,338	2,022	1,8287	**
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	485,324	1,348	1,219	*
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	712,193	1,106		
UKUPNO	N-1	1301	4026,863			CV = 5,85%

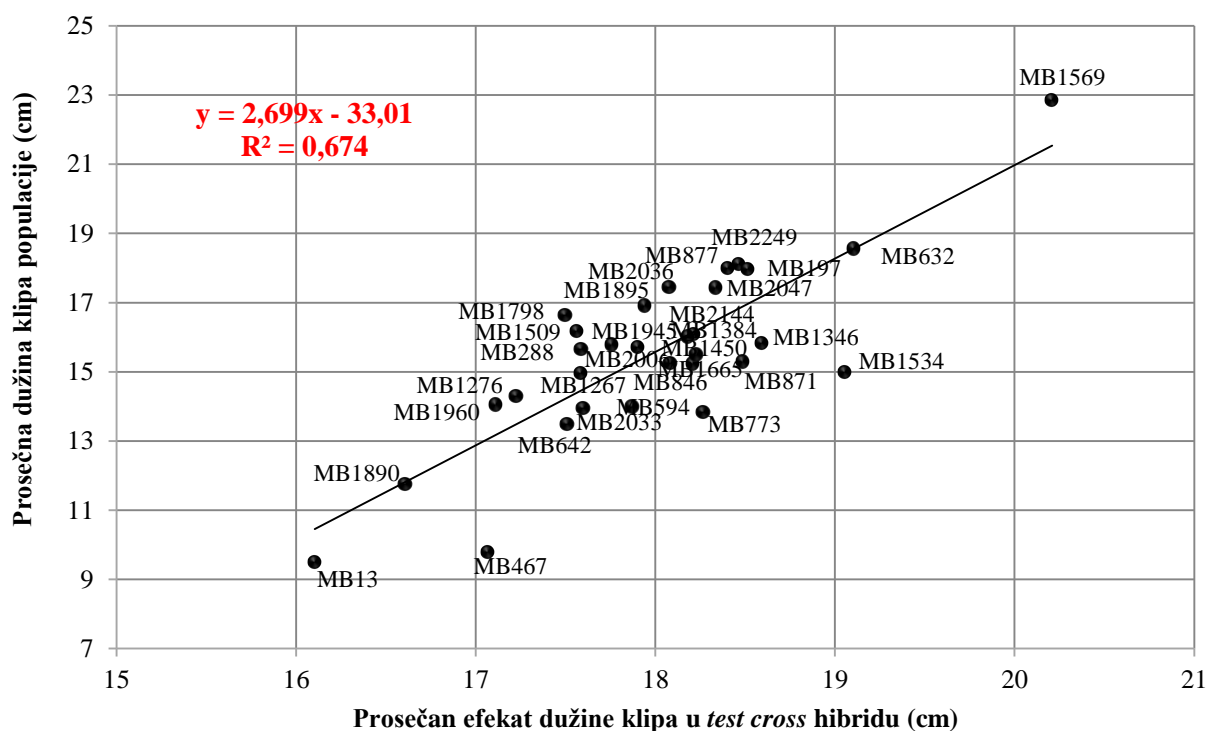
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB1569 (lokalnog naziva Zobačka, poreklom iz mesta Ajdovščina, Republika Slovenija) u ukrštanjima sa sva tri testera daje najveću dužinu klipa *test cross* hibrida (20,21 cm), odnosno, može se reći da je populacija MB1569 najbolji opšti kombinator za dužinu klipa. Sledeće po rangu su populacije poreklom iz Srbije MB632 (Žuti zuban, iz Bajine Bašte) i MB1534 (Domaći beli, iz Majdanpeka), a koje se statistički međusobno značajno ne razlikuju. Može se reći da i one imaju dobru OKS za dužinu klipa. Populacije MB632 i MB1569 su populacije zubana koje pripadaju osmoj i desetoj homogenoj grupi, dok je populacija MB1534 tvrdunac četvrte homogene grupe (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje dužine klipa, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 28).

Sa druge strane, populacija MB13 (Žuti jarik, iz Ivangrada – Crna Gora), tvrdunac treće homogene grupe u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjom dužinom klipa (16,10 cm). Pored ove populacije hibride kraćeg klipa u ukrštanjima sa sva tri testera daje i populacija MB1890 (Gospić – Hrvatska).

Tabela 28. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za dužinu klipa (cm) ($LSD = 0,4506$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za dužinu klipa (cm)						
A	•	MB1569	20,21				
B	••	MB632	19,10	MB1534	19,06		
C	•	MB1346	18,60				
CD	••••	MB197	18,52	MB871	18,49	MB2249	18,47
CDE	•	MB2047	18,34				
CDEF	•••	MB773	18,27	MB1450	18,23	MB2144	18,21
CDEFG	••	MB1665	18,21	MB1384	18,18		
DEFG	••	MB846	18,08	MB2036	18,08		
EFGH	••	MB1895	17,94	MB2006	17,90		
FGH	•	MB594	17,87				
GH	•	MB1945	17,76				
HI	••••	MB2033	17,60	MB288	17,59	MB1267	17,59
HIJ	••	MB642	17,51	MB1798	17,50		
II	•	MB1276	17,23				
J	••	MB1960	17,11	MB467	17,07		
K	•	MB1890	16,61				
L	•	MB13	16,10				

Upoređujući dužinu klipa populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti, uočava se da populacije dužeg klipa *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride nešto dužeg klipa i obrnuto. Koeficijent korelacije između osobine dužina klipa populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za osobinu dužina klipa (efekat populacije u *test cross* hibridu) je visok i iznosi $r=0,8214$; tako da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena (Grafikon 19).



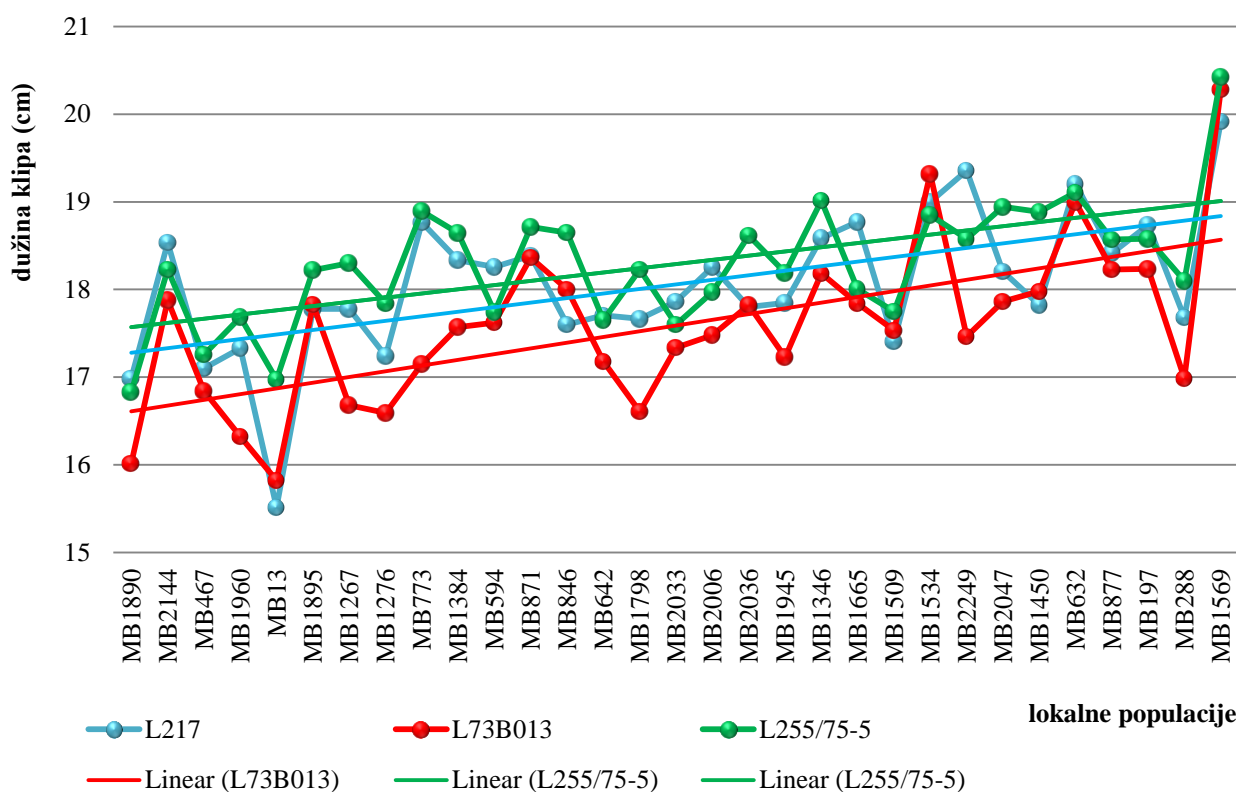
Grafikon 19. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu dužina klipa

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 29), primetno je da se efekti sva tri testera za dužinu klipa statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L255/75-5 daje hibride najdužih klipova (18,29 cm), dok testeri L217 (18,06; $p \leq 0,05$) i L73B013 (17,59; $p \leq 0,05$) daju hibride statistički značajno kraćeg klipa.

Tabela 29. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *top cross* hibridima za dužinu klipa (cm) ($LSD = 0,1402$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za dužinu klipa (cm)
A	•	L255/75-5 18,29
B	•	L217 18,06
C	•	L73B013 17,59

Na Grafikonu 20 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za dužinu klipa. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Može se konstatovati da populacije kraćeg vegetacionog perioda i nižih biljaka imaju i kraći klip, dok sa porastom visine biljke i dužine vegetacionog perioda menja se i dužina klipova. Potvrđen je uticaj testera-oca na dužinu klipova hibrida. Linija trenda testera L255/75-5 je najviša što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride dužeg klipa.



Grafikon 20. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu dužina klipa

6.1.8. Prečnik klipa

Opšti prosek za osobinu prečnik klipa *test cross* hibrida iznosio je 4,323 cm. Iz Tabele 30 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,433 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za prečnik klipa. Koeficijent varijacije ogleda za ovu osobinu iznosio je 3,44%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu prečnik klipa (Tabela 30).

Tabela 30. Tabela analize varijanse za osobinu prečnik klipa

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	19,89	3,315	150,2147 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	1,266	0,181	8,1984 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	5,694	2,847	129,0149 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	3,447	0,287	13,018 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	20,799	0,693	31,4156 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	7,684	0,043	1,9343 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	2,596	0,043	1,9605 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	8,064	0,022	1,015 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	14,212	0,022	
UKUPNO	N-1	1301	83,654		CV = 3,44%

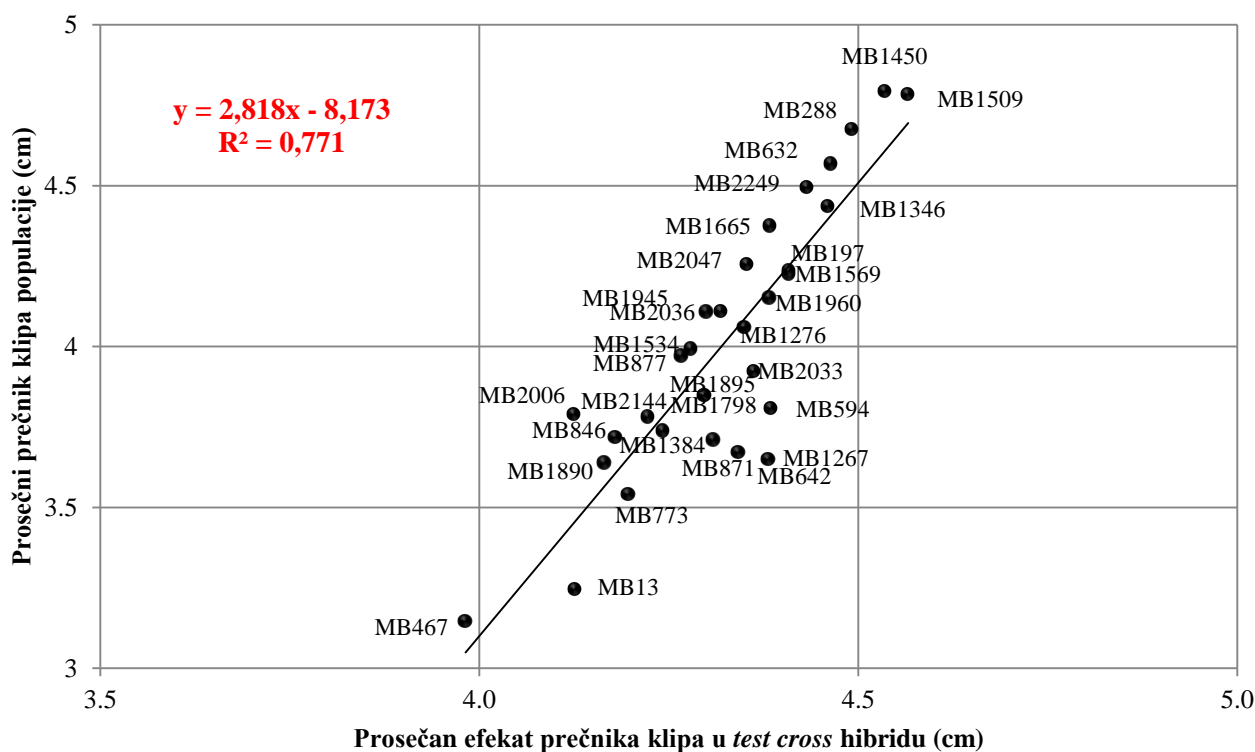
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacije MB1509 (Avguština, poreklom iz Kopra u Republici Sloveniji) i MB1450 (Domaći kukuruz poreklom iz Drniša u Republici Hrvatskoj) u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveći prečnik klipa u *test cross* hibridima (4,566 i 4,535 cm, respektivno). Odnosno, ukoliko bi prečnik klipa bilo svojstvo od interesa, može se reći da su ove populacije najbolji opšti kombinatori za tu osobinu. OKS populacije MB288 se statistički značajno ne razlikuje od OKS populacije MB1450, pa se može reći da i ova populacija ima dobru opštu kombinacionu sposobnost za prečnik klipa. Sve tri pomenute populacije su populacije zubana koje pripadaju jedanaestoj homogenoj grupi (Tabela 1), i mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 31).

Tabela 31. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za prečnik klipa (cm) ($LSD = 0,0636$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za prečnik klipa (cm)			
A	•	MB1509	4,566	
AB	•	MB1450	4,535	
BC	•	MB288	4,492	
CD	••	MB632	4,464	MB1346 4,460
CDE	•	MB2249	4,432	
DEF	••	MB1569	4,409	MB197 4,409
EFG	•••	MB594	4,385	MB1665 4,384 MB1960 4,383
EFGH	•	MB642	4,382	
FGHI	•	MB2033	4,363	
FGHIJ	••	MB2047	4,353	MB1276 4,350
GHIJK	•	MB1267	4,342	
HIJKL	•	MB1945	4,319	
IJKL	•	MB871	4,309	
IJKLM	•	MB2036	4,300	
JKLM	••	MB1895	4,298	MB1798 4,296
KLMN	•	MB1534	4,279	
LMN	•	MB877	4,267	
MNO	•	MB1384	4,242	
NOP	•	MB2144	4,222	
OP	••	MB773	4,197	
OPQ	•	MB846	4,180	
PQ	•	MB1890	4,165	
Q	••	MB13	4,126	MB2006 4,125
R	•	MB467	3,982	

Sa druge strane, populacija MB467 (Žuti tvrdunac, iz Bosanskog Petrovaca – Bosna i Hercegovina), treće homogene grupe u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjim prečnikom klipa (3,982 cm). Pored ove populacije, hibride sa manjim prečnikom klipa u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije MB2006 (Domaći tvrdunac, iz Ključa – Bosna i Hercegovina), MB13 (Žuti jarik, iz Ivograda – Crna Gora), a od njih se statistički značajno ne razlikuju populacije MB1890 i MB846. Osim polutvrdunca MB846, navedene populacije pripadaju, po tipu zrna, populacijama tvrdunaca. Ukoliko uporedimo prečnik klipa populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti OKS uočava se da populacije većeg prečnika klipa *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride nešto većeg prečnika klipa i obrnuto, što potvrđuje visok

koeficijent korelacije ($r=0,8781$) između vrednosti prečnika klipa populacija *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS (efekat populacije u *test cross* hibridu) za datu osobinu (Grafikon 21). Dakle, može se potvrditi aditivno delovanje gena i u nasleđivanju prečnika klipa.



Grafikon 21. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu prečnik klipa

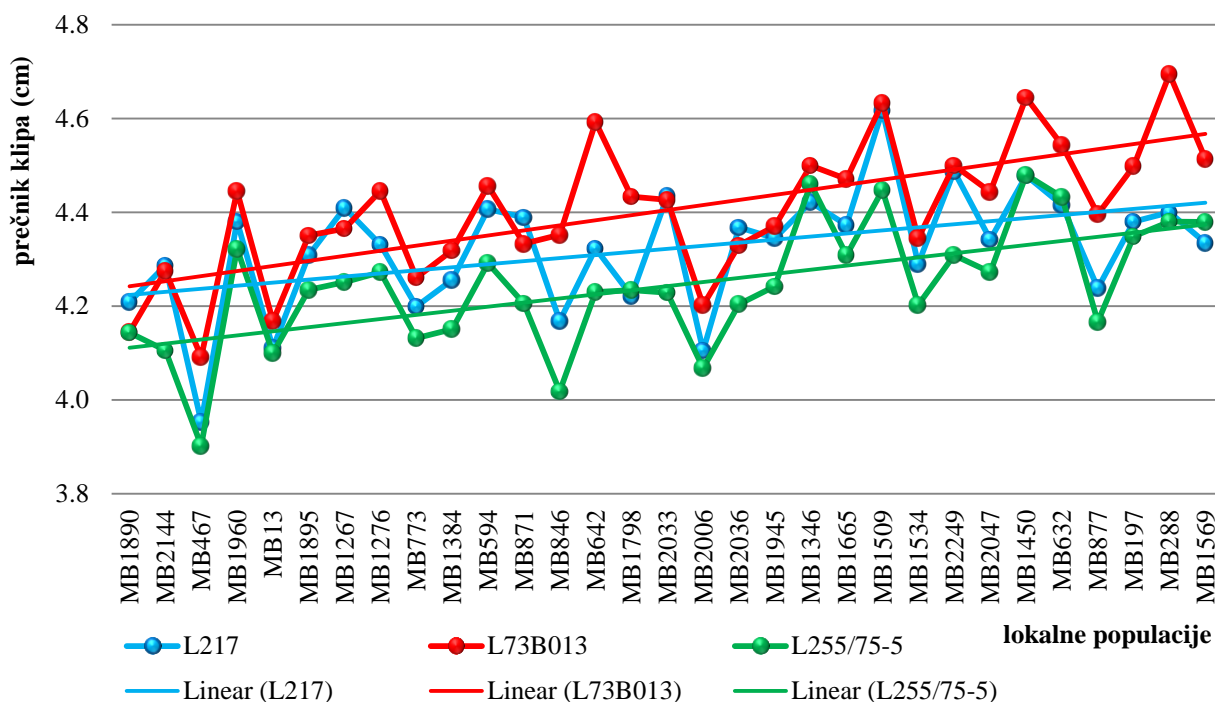
Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 32), vidi se da se efekti sva tri testera za osobinu prečnik klipa statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L73B013 daje klipove većeg prečnika (4,405 cm), dok testeri L217 (4,322; $p \leq 0,05$) i L255/75-5 (4,243; $p \leq 0,05$) daju hibride statistički značajno manjeg prečnika klipa.

Tabela 32. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za prečnik klipa (cm) ($LSD = 0,01977$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za prečnik klipa (cm)
A •	L73B013 4,405
B •	L217 4,322
C •	L255/75-5 4,243

Na Grafikonu 22 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za prečnik klipa. Populacije su poređane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih ukrštanjem populacija sa sva tri testera. Može se konstatovati da populacije kraćeg vegetacionog perioda i nižih biljaka imaju i manji prečnik klipa, dok sa porastom dužine vegetacionog perioda menja se i prečnik klipa. Jasno se uočava uticaj testera-oca na prečnik klipa hibrida. Linija trenda testera L73B013 je najviša što ukazuje da ovaj otac u ukrštanjima sa

ispitivanim populacijama daje hibride sa najvećim prečnikom klipa, dok su linije trenda testera L217 i L255/75-5 niže, i one ispoljavaju značajno manji prečnik klipa.



Grafikon 22. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu prečnik klipa

6.1.9. Prečnik oklaska

Opšti prosek za osobinu prečnik oklaska *test cross* hibrida iznosio je 2,412 cm. Iz Tabele 33 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,392 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za prečnik oklaska. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 4,22%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu prečnik oklaska (Tabela 33).

Tabela 33. Tabela analize varijanse za osobinu prečnik oklaska

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	1,89	0,315	30,3944 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	1,241	0,177	17,1008 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	13,391	6,696	645,9823 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	3,494	0,291	28,0931 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	11,206	0,374	36,0387 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	4,269	0,024	2,288 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	1,326	0,022	2,1321 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	3,824	0,011	1,0249 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	6,675	0,01	
UKUPNO	N-1	1301	47,317		CV = 4,22%

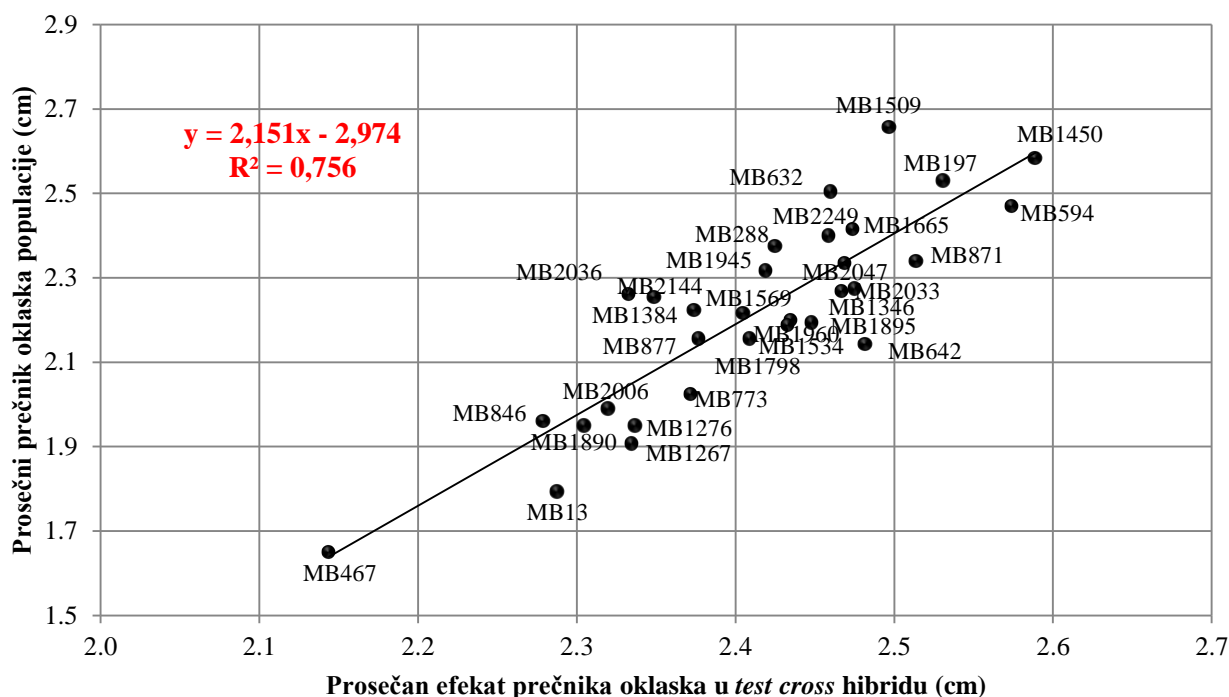
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija zubana MB1450, jedanaeste homogene grupe (Domaći kukuruz, poreklom iz Drniša - Republika Hrvatska) i populacija tvrđunca MB594, druge homogene grupe (Crvena pčenka, poreklom iz Bitolja – Severna Makedonija), u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveći prečnik oklaska *test cross* hibrida (2,589 i 2,574 cm, respektivno), a koje se međusobno statistički značajno ne razlikuju. Treba napomenuti da ovu nepoželjnu osobinu poseduju i populacije MB197, MB871 i MB1509 koje se međusobno statistički značajno ne razlikuju (Tabela 34). Populacije u tipu zubana jedanaeste homogene grupe su MB197 i MB1509, poreklom iz Republike Slovenije, a populacija u tipu polutvrđunca četvrte homogene grupe je MB871, poreklom iz Severne Makedonije (Tabela 1).

Tabela 34. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za prečnik oklaska (cm) ($LSD = 0,0428$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za prečnik oklaska (cm)			
A	••	MB1450	2,589	MB594	2,574
B	•	MB197	2,531		
BC	•	MB871	2,514		
BCD	•	MB1509	2,497		
CDE	•	MB642	2,482		
CDEF	••	MB2033	2,475	MB1665	2,474
DEF	•	MB2047	2,469		
DEFG	•	MB1346	2,467		
DEFGH	••	MB632	2,460	MB2249	2,459
EFGHI	•	MB1895	2,448		
FGHI	••	MB1960	2,435	MB1534	2,433
GHI	•	MB288	2,425		
HIJ	•	MB1945	2,419		
IJK	••	MB1798	2,409	MB1569	2,405
JKL	•	MB877	2,377		
KLM	••	MB1384	2,374	MB773	2,372
LMN	•	MB2144	2,349		
LMNO	••	MB1890	2,337	MB1267	2,335
MNO	•	MB2036	2,333		
NOP	•	MB2006	2,320		
OP	•	MB1276	2,305		
P	••	MB13	2,288	MB846	2,279
Q	•	MB467	2,144		

Sa druge strane, populacija MB467 (Žuti tvrđunac, iz Bosanski Petrovac – Bosna i Hercegovina), treće homogene grupe, a u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjim prečnikom oklaska (2,144 cm). Treba naglasiti, da pored tankog oklaska koju unosi u hibrid, ova populacija je sa nisko rangiranim vrednostima OKS u ukrštanjima sa sva tri testera za osobine širina listova i prečnik klipa. Pored ove populacije hibride sa manjim prečnikom oklaska u ukrštanjima dale su i populacije treće (MB13), četvrte (MB846 i MB1276), i šeste (MB2006) homogene grupe, a koje se međusobno statistički značajno ne razlikuju. Ukoliko se uporede prečnik oklaska populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti uočava se da populacije većeg prečnika oklaska *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride nešto većeg prečnika oklaska i obrnuto, što ukazuje da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena. Ovu činjenicu potvrđuju rezultati korelacije između osobine prečnik

oklaska populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za osobinu prečnik oklaska, gde visok koeficijent korelacije ($r=0,8695$) ukazuje na veoma jak stepen linearne korelisanosti tih parametara (Grafikon 23).



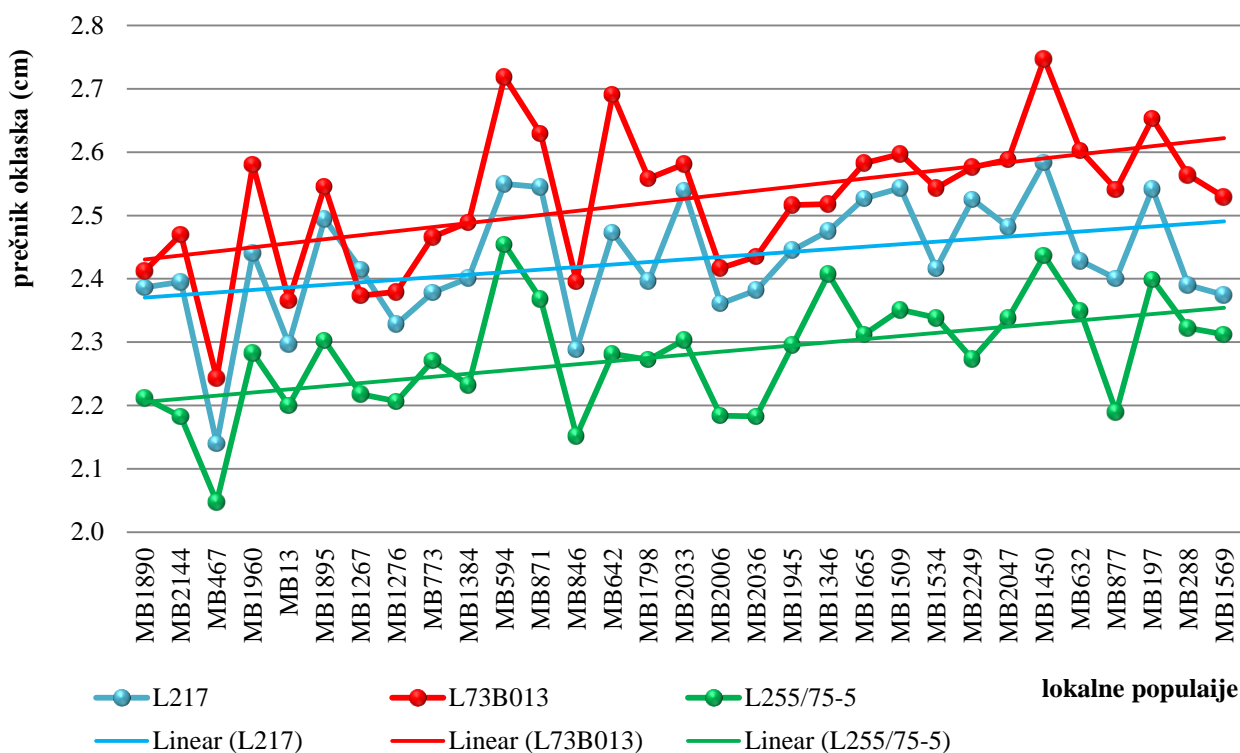
Grafikon 23. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hybridima za osobinu prečnik oklaska

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hybridima (Tabela 35), vidi se da se efekti sva tri testera za osobinu prečnik oklaska statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L73B013 daje hibride najvećeg prečnika oklaska (2,526 cm), dok testeri L217 (2,431; $p \leq 0,05$) i L255/75-5 (2,280; $p \leq 0,05$) daju hibride statistički značajno manjih prečnika oklaska.

Tabela 35. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hybridima za prečnik oklaska (cm) ($LSD = 0,01333$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hybridima za prečnik oklaska (cm)
A	•	L73B013 2,526
B	•	L217 2,431
C	•	L255/75-5 2,280

Na Grafikonu 24 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za prečnik oklaska. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Na ovom grafikonu se takođe jasno uočava uticaj testera-oca na prečnik oklaska hibrida. Linija trenda testera L73B013 je najviša što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa većim prečnikom oklaska, dok testeri L217 i L255/75-5 ispoljavaju značajno manji prečnik oklaska.



Grafikon 24. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu prečnik oklaska

6.1.10. Dubina zrna

Opšti prosek za osobinu dubina zrna *test cross* hibrida iznosio je 0,955 cm. Iz Tabele 36 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacije, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$), izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p=0,084 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za dubinu zrna. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 5,61%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu dubina zrna (Tabela 36).

Tabela 36. Tabela analize varijanse za osobinu dubina zrna

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	2,788	0,465	161,6352 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	0,218	0,031	10,8383 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	0,448	0,224	77,859 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	0,433	0,036	12,556 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	1,933	0,064	22,4131 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	0,985	0,005	1,9038 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	0,349	0,006	2,0255 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	1,175	0,003	1,135 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	1,851	0,003	
UKUPNO	N-1	1301	10,181		CV = 5,61%

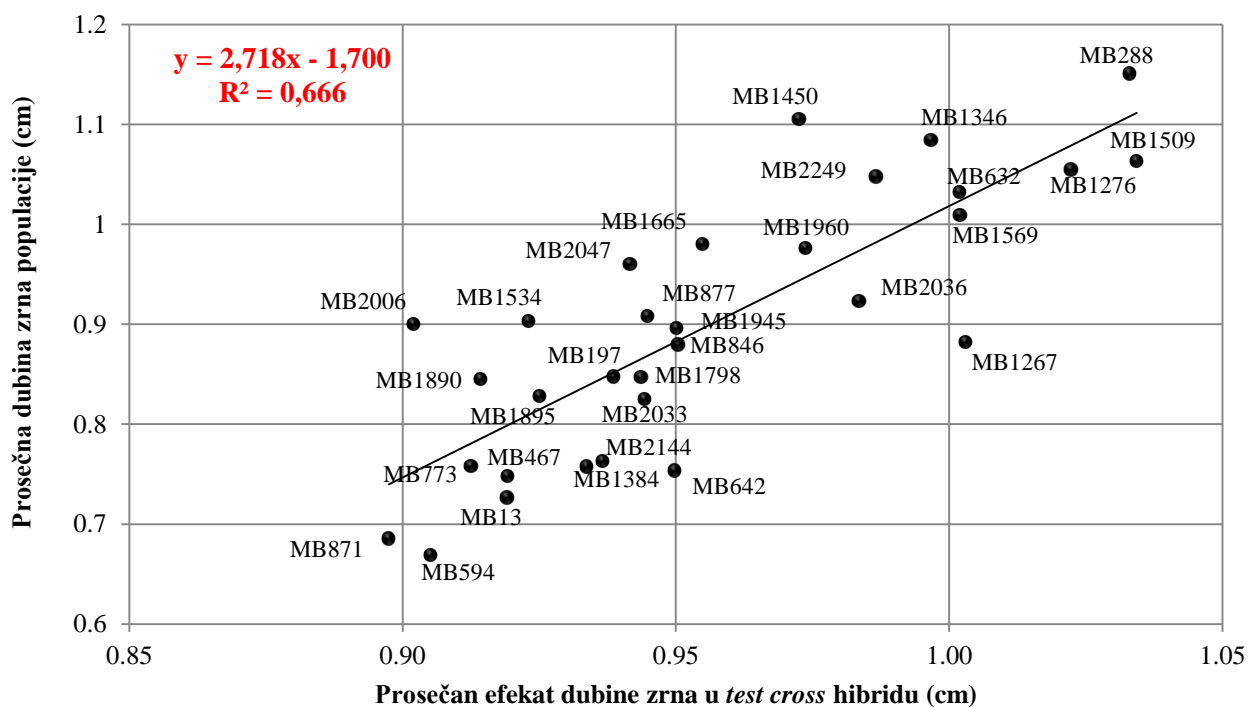
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB1509 ima najveću vrednost OKS za dubinu zrna (1,034 cm), dok se statistički

značajno nisu razlikovale vrednosti OKS populacija MB288 i MB1276 (1,033 i 1,022 cm, respektivno). Populacije MB1509 i MB288 pripadaju jedanaestoj homogenoj grupi, dok populacija MB1276 pripada četvrtoj homogenoj grupi (Selarsko seme, poreklom iz Danilovgrada – Crna Gora). Sve tri populacije su u tipu zubana, a u ukrštanjima sa sva tri testera daju najveću dubinu zrna *test cross* hibrida. Ukoliko bi dubina zrna bila svojstvo od interesa može se reći da su, pored ovih populacija, visoke vrednosti OKS imale i populacije istog ranga MB1267 (Belo seme, poreklom iz Cetinja – Crna Gora), MB1569 (Zobačka, poreklom iz Ajdovščine – Slovenija) i MB632 (Žuti zuban, poreklom iz Bajine Bašte – Srbija), a čije se vrednosti statistički značajno ne razlikuju od vrednosti OKS (efekta populacije – majke) MB1276. Navedene populacije su u tipu zubana, osim populacije MB1267 koja ima intermedijarni tip zrna (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje dubine zrna, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 37).

Tabela 37. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za dubinu zrna (cm) ($LSD = 0,0235$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za dubina zrna (cm)					
A	••	MB1509	1,034	MB288	1,033	
AB	•	MB1276	1,022			
BC	•••	MB1267	1,003	MB1569	1,002	MB632 1,002
CD	•	MB1346	0,997			
CDE	••	MB2249	0,987	MB2036	0,984	
DEF	•	MB1960	0,974			
EFG	•	MB1450	0,973			
FGH	••	MB1665	0,955	MB846	0,950	
GH	••	MB1945	0,950	MB642	0,950	
HI	•••	MB877	0,945	MB2033	0,944	MB1798 0,944
HIJ	••	MB2047	0,942	MB197	0,939	
HIJK	•	MB2144	0,937			
HIJKL	•	MB1384	0,934			
IJKLM	••	MB1895	0,925	MB1534	0,923	
JKLMN	••	MB467	0,919	MB13	0,919	
KLMN	•	MB1890	0,914			
LMN	•	MB773	0,913			
MN	••	MB594	0,905	MB2006	0,902	
N	•	MB871	0,897			

Sa druge strane, populacija polutvrđunca MB871 (Brzica - skorovno seme, poreklom iz Đevđelije – Republika Severna Makedonija), četvrte homogene grupe, u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjom dubinom zrna (0,897 cm). Od efekta ove populacije statistički se nisu razlikovali efekti populacija MB2006, MB594, MB773, MB1890, MB13 i MB467. Sve navedene populacije po tipu zrna pripadaju tvrduncima. Visok koeficijent korelacije ($r=0,8163$) dubine zrna populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti OKS ukazuje na veoma jak stepen linearne zavisnosti tih parametara (Grafikon 25). Ova činjenica ukazuje da je za nasleđivanje dubine zrna presudno aditivno delovanje gena.



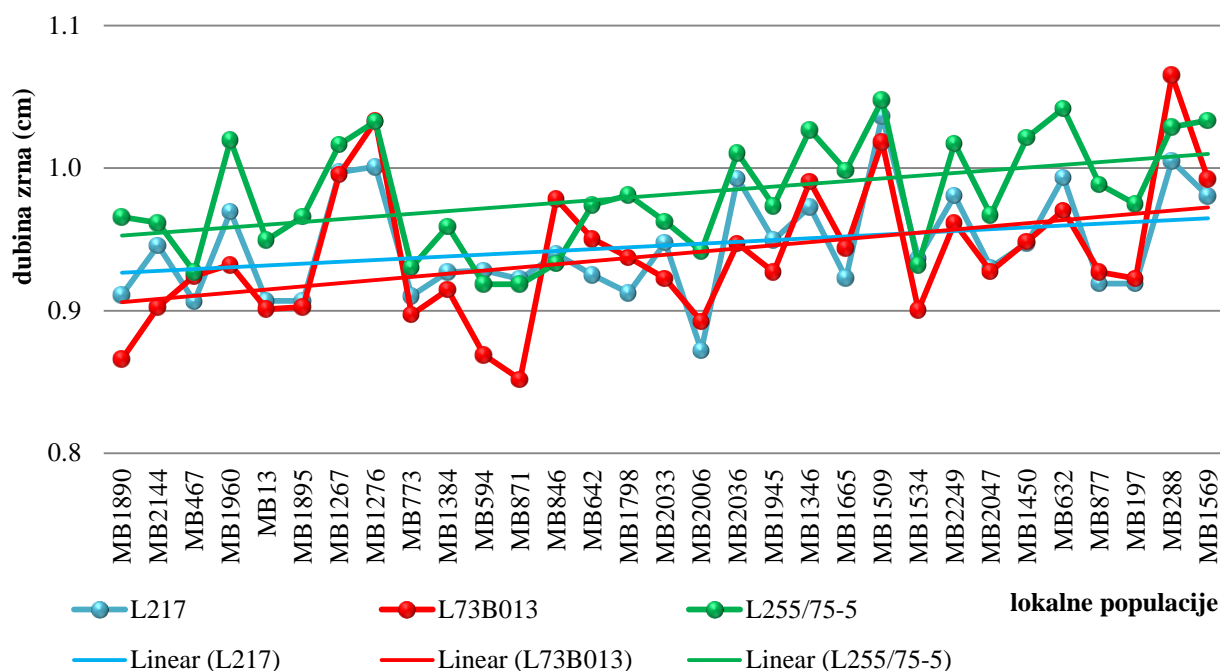
Grafikon 25. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu dubina zrna

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 38), može se videti da se tester L255/75-5 u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama pokazao najbolji opšti kombinator (0,981; $p \leq 0,05$). Efekti testera L217 i L73B013 se međusobno statistički značajno ne razlikuju (0,946 i 0,939, respektivno), i u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama unose manju dubinu zrna.

Tabela 38. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za dubinu zrna (cm) ($LSD = 0,0073$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za dubinu zrna (cm)	
A	•	L255/75-5	0,981
B	••	L217	0,946
		L73B013	0,939

Na Grafikonu 26 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za dubinu zrna. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Takođe je utvrđen i uticaj testera-oca na dubinu zrna hibrida. Linija trenda testera L255/75-5 je viša što ukazuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa dubljim zrnem. Međutim, linije trenda testera L217 i L73B013 se skoro preklapaju, a to ukazuje da hibridi ova dva testera i populacija ispoljavaju sličnu prosečnu dubinu zrna.



Grafikon 26. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu dubina zrna

6.1.11. Broj redova zrna

Broj redova zrna kukuruza je oplemenjivačka osobina koja uz ostale čini značajnu komponentu prinosa. Opšti prosek za osobinu broj redova zrna *test cross* hibrida iznosio je 13,70 redova. Iz Tabele 39 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacija, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$) izuzev trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p = 0,917 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za broj redova zrna. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 5,67%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu broj redova zrna (Tabela 39).

Tabela 39. Tabela analize varijanse za osobinu broj redova zrna

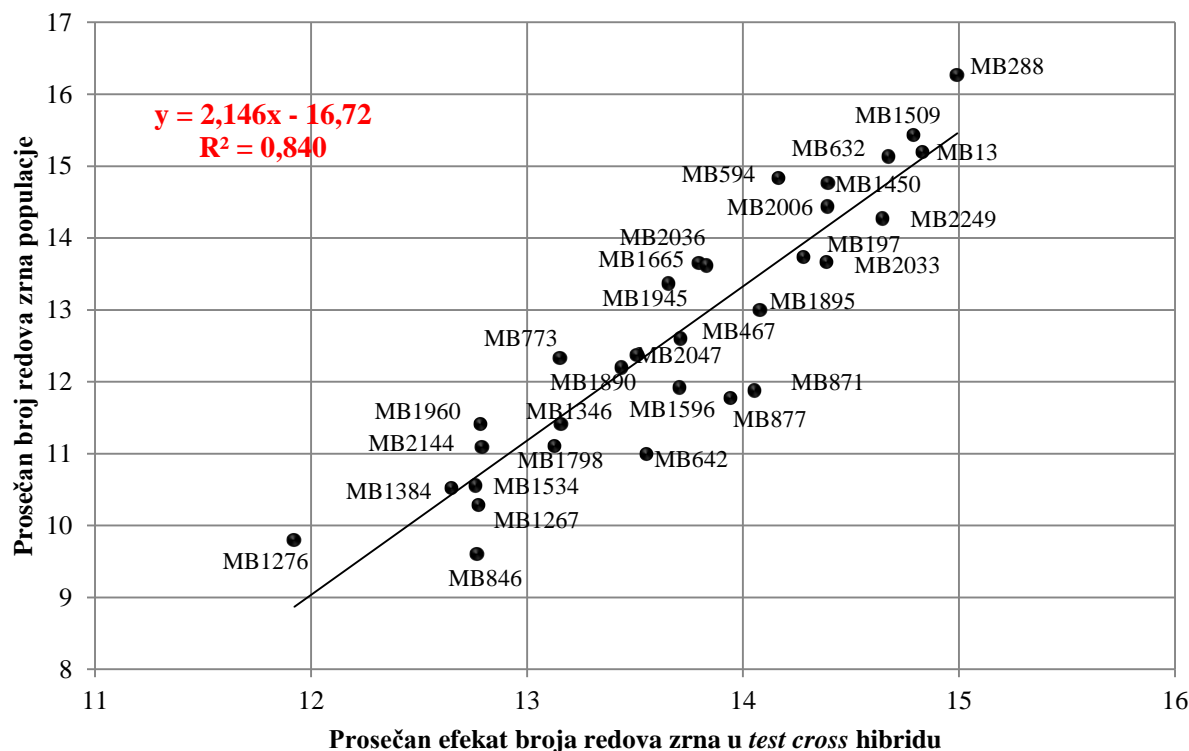
Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	48,982	8,164	13,5419 **
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	16,319	2,331	3,8671 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	13,771	6,886	11,4219 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	40,683	3,39	5,6238 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	751,062	25,035	41,5289 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	209,545	1,164	1,9311 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	81,492	1,358	2,253 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	190,427	0,529	0,8774 NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	388,231	0,603	CV = 5,67%
UKUPNO	N-1	1301	1740,512		

Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB288 (Žuti zuban, poreklom iz okoline Novog Sada – Srbija) u ukrštanjima sa sva tri testera daje najveći broj redova zrna *test cross* hibrida (14,99 redova). Međutim, najbolje vrednosti OKS za broj redova zrna imaju i populacije MB13, MB1509 i MB632, a koje se statistički značajno ne razlikuju od populacije MB288. Pored navedenih populacija, kao najboljih opštih kombinatora, može se uzeti u obzir i populacija MB2249 (Muratovača, iz mesta Ključ – Bosna i Hercegovina), a čiji se efekat u hibridu statistički značajno ne razlikuje od efekta populacija MB13, MB1509 i MB632. Sve populacije pripadaju osmoj (MB632 i MB2249) i jedanaestoj (MB288 i MB1509) homogenoj grupi u tipu zubana, osim populacije MB13 (Žuti jarik, iz Ivanograda – Crna Gora), koja pripada trećoj homogenoj grupi, u tipu tvrduca (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje broja redova zrna, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 40).

Tabela 40. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za broj redova zrna ($LSD = 0,3327$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za broj redova zrna
A	• MB288 14,99
AB	•• MB13 14,83 MB1509 14,79
ABC	• MB632 14,68
BC	• MB2249 14,65
CD	••• MB1450 14,40 MB2006 14,39 MB2033 14,39
DE	• MB197 14,28
DEF	• MB594 14,17
DEFG	• MB1895 14,08
EFG	• MB871 14,05
FGH	• MB877 13,94
GHI	•• MB1665 13,83 MB2036 13,80
HIJ	••• MB467 13,71 MB1569 13,71 MB1945 13,66
IJ	•• MB642 13,55 MB2047 13,51
JK	• MB1890 13,44
K	••• MB1346 13,16 MB773 13,15 MB1798 13,13
L	••••• MB2144 12,79 MB1960 12,79 MB1267 12,78 MB846 12,77 MB1534 12,76 MB1384 12,65
M	• MB1276 11,92

Na suprotnoj strani grafikona ranga nalazi se populacija zubana, četvrte homogene grupe, MB1276 (Selarsko seme, iz Danilovgrada – Crna Gora), što znači da u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjim brojem redova zrna (11,92 reda). Pored ove populacije, hibride sa manjim brojem redova zrna u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije četvrte (MB1384, MB1534, MB846, MB1960 i MB2144) i druge (MB1267) homogene grupe, a koje se međusobno statistički značajno ne razlikuju. Gotovo su sve populacije intermedijarnog tipa zrna, osim populacija MB1534 i MB2144 koje po tipu zrna pripadaju tvrducima. Poredeći broj redova zrna populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti uočava se da populacije većeg broja redova zrna *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride sa nešto većim brojem redova zrna i obrnuto, ukazujući da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena. Ovu činjenicu potvrđuje visoka vrednost koeficijenta korelacije ($r=0,9166$) između vrednosti osobine broj redova zrna populacija *per se* i odgovarajuće vrednosti OKS za datu osobinu (efekat populacije u *test cross* hibridu) (Grafikon 27).



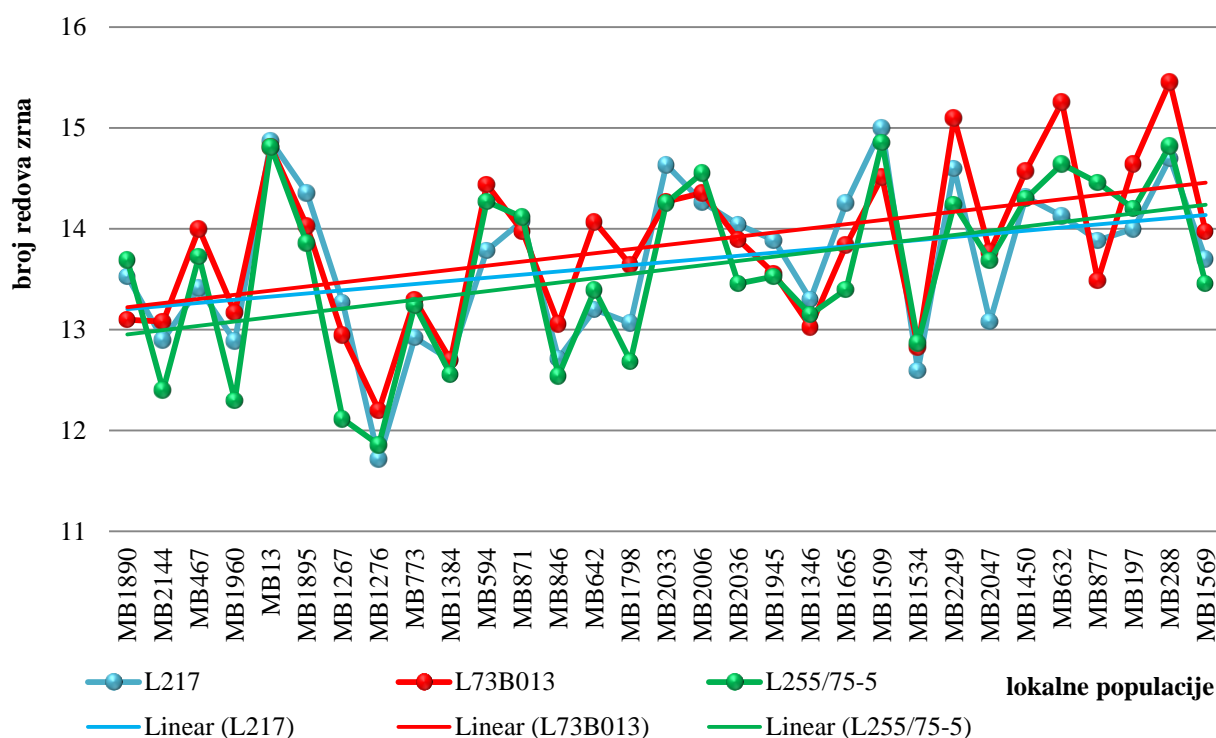
Grafikon 27. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu broj redova zrna

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 41), vidi se da tester L73B013 u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje najveći broj redova zrna (13,84; $p \leq 0,05$) u poređenju sa testerima L217 i L255/75-5 koji se međusobno statistički značajno ne razlikuju (13,67 i 13,60 redova, respektivno).

Tabela 41. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za broj redova zrna ($LSD = 0,1035$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za broj redova zrna		
A	•	L73B013	13,84	
B	••	L217	13,67	L255/75-5 13,60

Na Grafikonu 28 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za broj redova zrna. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Takođe, jasno se uočavaju različiti uticaji testera-oca na broj redova zrna hibrida. Linija trenda testera L73B013 je viša u odnosu na druge testere, što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa većim brojem redova zrna. Međutim, linije trenda testera L217 i L255/75-5 se skoro preklapaju, što potvrđuje da hibridi sa ovim testerima ispoljavaju sličan prosečan broj redova zrna.



Grafikon 28. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu broj redova zrna

6.1.12. Broj zrna u redu

Opšti prosek za osobinu broj zrna u redu *test cross* hibrida iznosio je 36,310 zrna. Iz Tabele 42 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacija, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$) izuzev ponavljanja unutar spoljašnje sredine ($p=0,0578 > 0,05$) i trostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac \times majka) ($p=0,2445 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za broj zrna u redu. Koeficijent varijacije ogleđa za ovu osobinu iznosio je 7,68%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu broj zrna u redu (Tabela 42).

Tabela 42. Tabela analize varijanse za osobinu broj zrna u redu

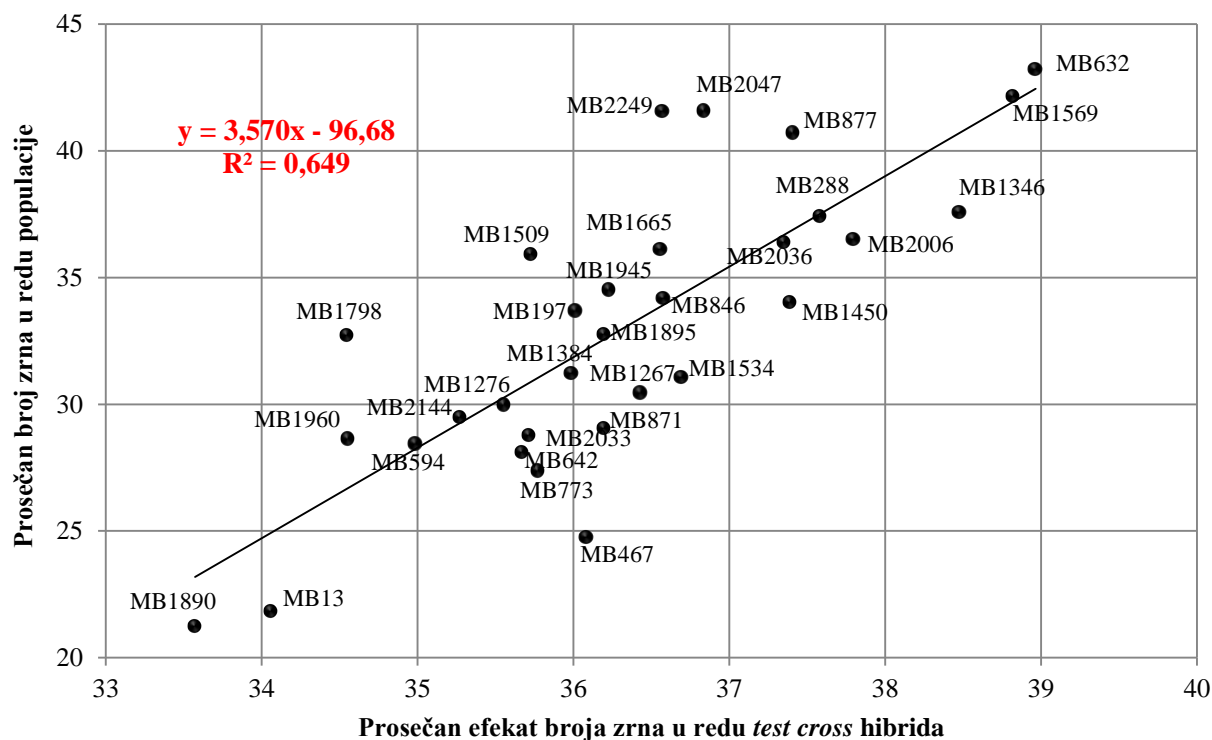
Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	4518,835	753,139	96,8441	**
Ponavljjanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	106,874	15,268	1,9632	NZ
Efekat faktora A (otac)	k-1	3962,02	1981,01	254,7327	**
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	1323,875	110,323	14,1861	**
Efekat faktora B (majka)	s-1	2091,779	69,726	8,9659	**
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	2863,667	15,909	2,0457	**
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	708,991	11,817	1,5195	**
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	2982,997	8,286	1,0655	NZ
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	5008,27	7,777		
UKUPNO	N-1	23567,31			CV = 7,68%

Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da su populacije MB632 (osme) i MB1569 (desete) homogene grupe sa tipom zrna zuban u ukrštanjima sa sva tri testera dale najveći broj zrna u redu *test cross* hibrida (38,97 i 38,82 zrna u redu, respektivno), a koje se statistički značajno ne razlikuju od efekta populacija MB1346 i MB2006. Stoga, ukoliko bi broj zrna u redu bilo svojstvo od interesa može se reći da su ove populacije najbolji opšti kombinatori (Tabela 43).

Tabela 43. Značajnost razlika efekta majke (populacija) u *test cross* hibridima za broj zrna u redu ($LSD = 1,195$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za broj zrna u redu					
A	••	MB632	38,97	MB1569	38,82	
AB	•	MB1346	38,48			
ABC	•	MB2006	37,80			
BCD	•	MB288	37,58			
BCDE	••	MB877	37,41	MB1450	37,39	
BCDEF	•	MB2036	37,35			
CDEFG	•	MB2047	36,84			
CDEFGH	•	MB1534	36,70			
DEFGH	•••	MB846	36,58	MB2249	36,57	MB1665 36,56
DEFGHI	•	MB1267	36,43			
EFGHI	•	MB1945	36,23			
FGHI	••	MB871	36,20	MB1895	36,20	
GHIJ	••••	MB467	36,08	MB197	36,01	MB1384 35,99 MB773 35,77
GHIJK	•••	MB1509	35,73	MB2033	35,72	MB642 35,67
HIJK	•	MB1276	35,56			
IJK	•	MB2144	35,27			
JKL	•	MB594	34,99			
KLM	••	MB1960	34,55	MB1798	34,55	
LM	•	MB13	34,06			
M	•	MB1890	33,57			

S druge strane, najmanji broj zrna u redu javljao se kod tipova tvrdunaca i polutvrdunaca nižeg rednog broja homogenih grupa. Tako, najlošije OKS za broj zrna u redu imala je populacija MB1890 (33,57), dok se u odnosu na nju statistički nisu značajno razlikovale OKS populacija MB13, MB1798 i MB1960 (treće, pete i četvrte homogene grupe, respektivno). U odnosu na ove tri populacije, treba istaći i populaciju MB594 (druge homogene grupe), koja se od njih statistički značajno ne razlikuje. Ukoliko se uporede broj zrna u redu populacija *per se* (Tabela 2) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti, uočava se da populacije sa velikim brojem zrna u redu *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju i hibride sa većim brojem zrna u redu i obrnuto. To ukazuje da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena. Ovu činjenicu potvrđuju rezultati korelacije (Grafikon 29) između osobine broj zrna u redu populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za osobinu broj zrna u redu ($r=0,8060$).



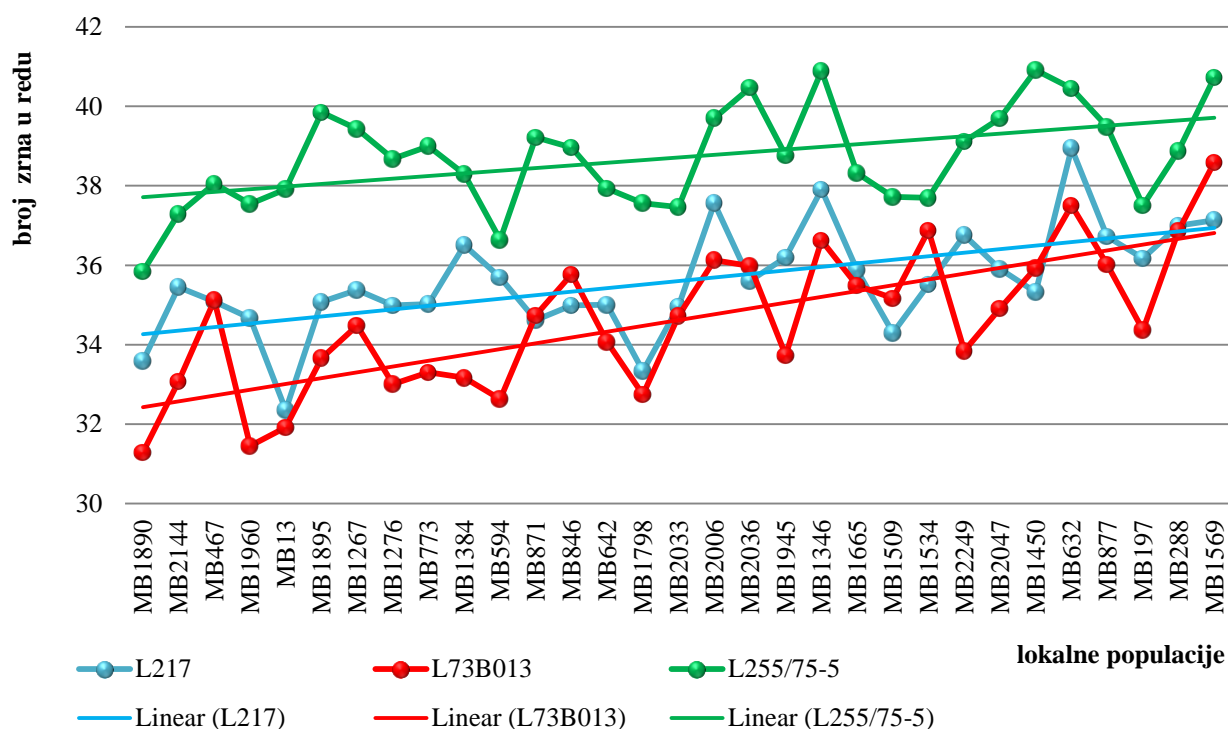
Grafikon 29. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za broj zrna u redu

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 44), primetno je da se efekti svih testera L255/75-5, L217 i L73B013 za broj zrna u redu statistički značajno razlikuju. U ukrštanjima sa ispitivanim populacijama tester L255/75-5 daje hibride sa najvećim brojem zrna u redu (38,71), a L73B013 sa najmanjim (34,62; $p \leq 0,05$).

Tabela 44. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za broj zrna u redu ($LSD = 0,3717$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za broj zrna u redu
A •	L255/75-5 38,71
B •	L217 35,60
C •	L73B013 34,62

Na Grafikonu 30 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za broj zrna u redu. Populacije su poredane po homogenim grupama. Uočava se pozitivan trend sa porastom rednog broja homogenih grupa kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Može se konstatovati da populacije kraćeg vegetacionog perioda i nižih biljaka imaju manji broj zrna u redu, dok sa porastom visine biljke i dužinom vegetacionog perioda menja se i broj zrna u redu. Na ovom grafikonu se takođe jasno uočava uticaj testera - oca na broj zrna u redu hibrida. Linija trenda testera L255/75-5 je najviša što potvrđuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje hibride sa značajno većim brojem zrna u redu.



Grafikon 30. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu broj zrna u redu

6.1.13. Masa 1000 semena

Opšti prosek za osobinu masa 1000 semena *test cross* hibrida iznosio je 334,66 g. Iz Tabele 45 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacija, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$) izuzev dvostruke interakcije (spoljašnja sredina \times otac) ($p = 0,0856 > 0,05$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za masu 1000 semena. Koeficijent varijacije ogleda za ovu osobinu iznosio je 6,75%. Mali koeficijent varijacije ukazuje na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za osobinu masa 1000 semena (Tabela 45).

Tabela 45. Tabela analize varijanse za osobinu masa 1000 semena

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost	
Spoljašnja sredina	n-1	6	1346363,661	224393,944	439,8738 **
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	7	14071,485	2010,212	3,9406 **
Efekat faktora A (otac)	k-1	2	16896,781	8448,391	16,5612 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	12	9823,552	818,629	1,6047 NZ
Efekat faktora B (majka)	s-1	30	684853,681	22828,456	44,75 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	180	199958,203	1110,879	2,1776 **
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	60	57495,382	958,256	1,8784 **
Spoljašnja sredina \times efekata faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	360	228540,601	634,835	1,2445 **
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	644	328525,374	510,133	CV = 6,75%
UKUPNO	N-1	1301	2886528,719		

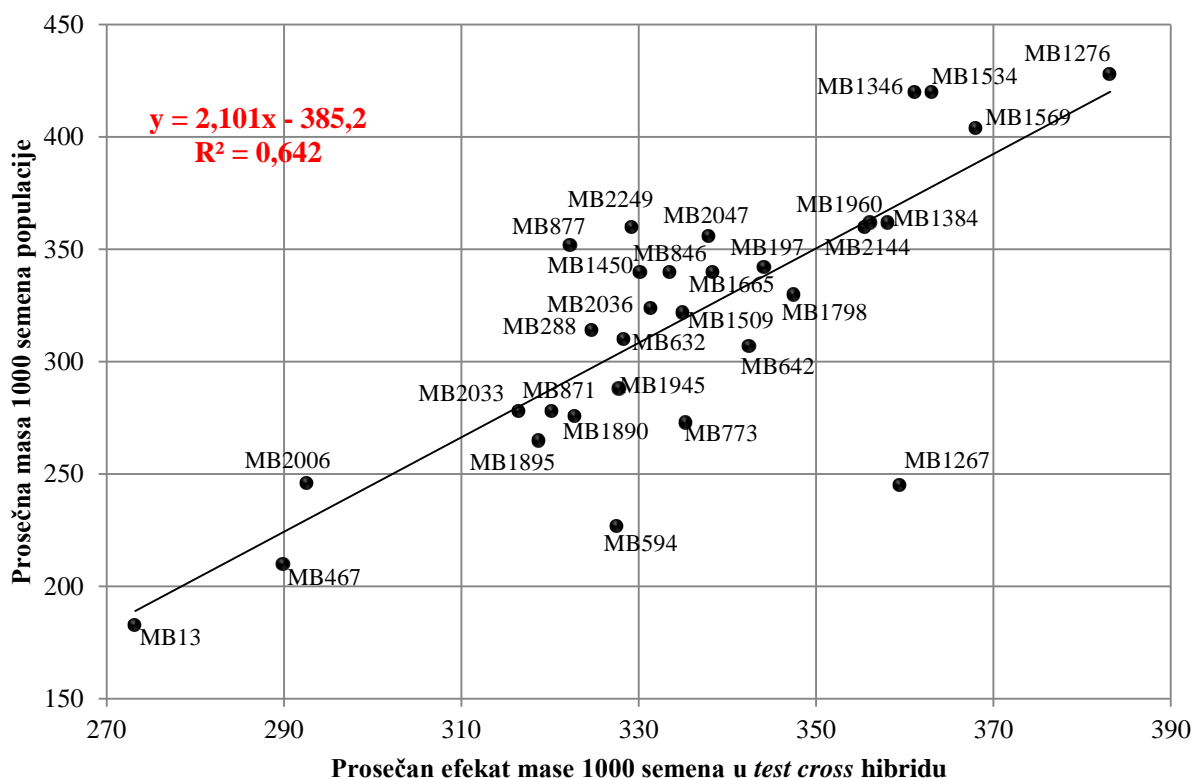
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p = 0,05$), utvrđeno je da populacija MB1276 (Selarsko seme, po tipu zrna zuban iz mesta Danilovgrad – Crna Gora) u

ukrštanjima sa sva tri testera daje najveću masu 1000 semena *test cross* hibrida (383,2 g). Odnosno, ukoliko bi masa 1000 semena bila svojstvo od interesa može se reći da je ova populacija najbolji opšti kombinator. Takođe, hibride sa većom masom 1000 semena u ukrštanjima sa sva tri testera daju populacije MB1569, MB1534, MB1346 i MB1267, a koje se međusobno statistički značajno ne razlikuju, dok se značajno razlikuju od populacije MB1276. Ovde treba istaći populaciju MB1534 (četvrte homogene grupe) koja ima najveću OKS za masu 1000 zrna u kategoriji tvrdunca (Tabela 1). Stoga, ukoliko je oplemenjivački cilj povećanje mase 1000 semena, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 46).

Tabela 46. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za masu 1000 semena ($LSD = 9,678$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za masu 1000 semena			
A	•	MB1276	383,2		
B	•	MB1569	368,0		
BC	•••	MB1534	363,1	MB1346	361,1
				MB1267	359,4
C	•	MB1960	358,1		
CD	••	MB1384	356,1	MB2144	355,5
DE	•	MB1798	347,5		
EF	•	MB197	344,2		
EFG	•	MB642	342,5		
EFGH	•	MB1665	338,4		
EFGHI	•	MB2047	337,9		
FGHIJ	••	MB773	335,3	MB1509	335,0
GHIJK	•	MB846	333,5		
HIJKL	••	MB2036	331,4	MB1450	330,2
HIJKLM	•	MB2249	329,3		
IJKLMN	•	MB632	328,3		
JKLMN	••	MB1945	327,8	MB594	327,6
KLMNO	•	MB288	324,7		
LMNO	••	MB1890	322,8	MB877	322,3
MNO	•	MB871	320,3		
NO	•	MB1895	318,7		
O	•	MB2033	316,5		
P	••	MB2006	292,6	MB467	289,9
Q	•	MB13	273,2		

Sa druge strane, populacija MB13 (prve homogene grupe), lokalnog naziva Žuti jarik (iz mesta Ivangrad – Crna Gora), u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjom masom 1000 semna (273,2 g). Pored ove populacije hibride sitnog zrna u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije MB2006 i MB467. One pripadaju ranim populacijama sa prostora Bosne i Hercegovine, treće (MB2006) i šeste (MB467) homogene grupe, a koje su po tipu zrna tvrdunci ili slični tvrduncima. Visok koeficijent korelacije ($r=0,8016$) između mase 1000 semena populacija *per se* (Tabela 2) i odgovarajuće vrednosti OKS ukazuje na veoma jak stepen linearne korelisanosti tih parametara (Grafikon 31), što implicira da je za nasleđivanje i ove osobine presudno aditivno delovanje gena.



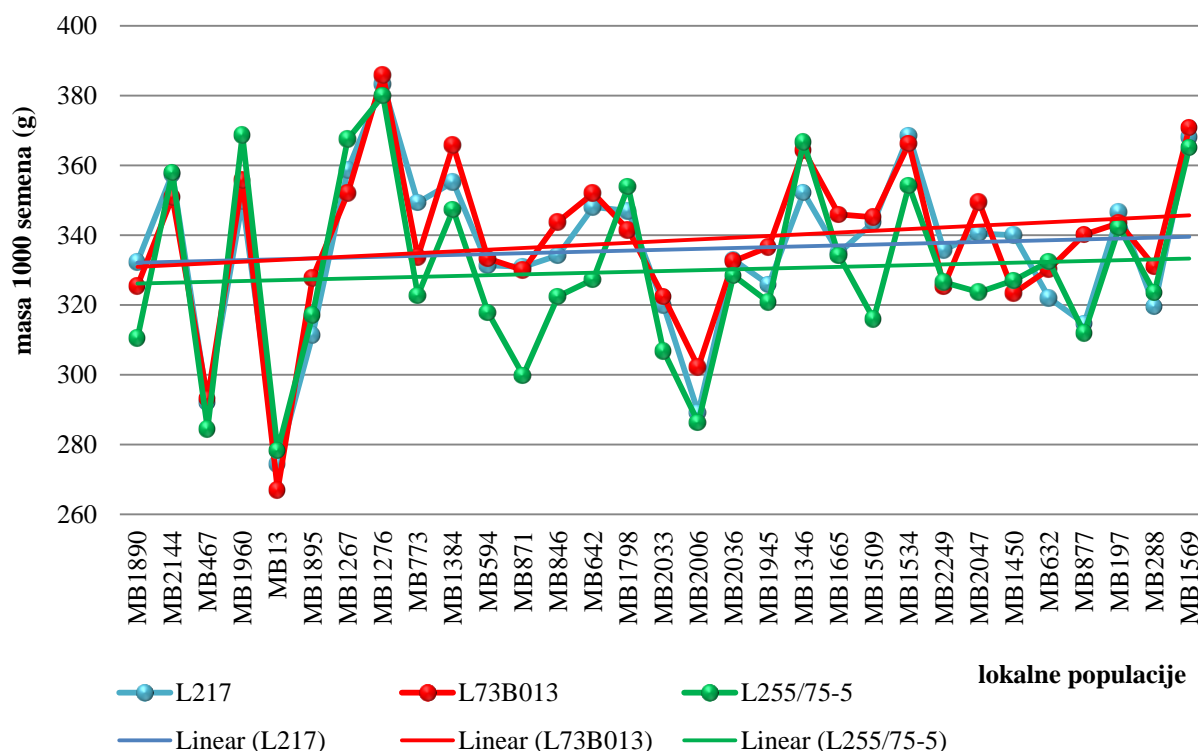
Grafikon 31. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za osobinu masa 1000 semena

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 47), primetno je da se efekti testera L73B013 i L217 za masu 1000 semena statistički značajno ne razlikuju (338,4 i 335,9 g, respektivno) i da u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daju veću masu 1000 semena hibrida, u poređenju sa testerom L255/75-5 koji daje statistički značajno manju masu 1000 semena hibrida (329,8; $p \leq 0,05$).

Tabela 47. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za masu 1000 semena ($LSD = 3,011$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za masu 1000 semena			
A	••	L73B013	338,4	L217	335,9
B	•	L255/75-5	329,8		

Na Grafikonu 32 prikazane su prosečne vrednosti *test cross* hibrida u ukrštanjima sa pojedinačnim testerima (interakcija majka \times otac) za masu 1000 zrna. Populacije su poređane po homogenim grupama. Uočava se blago pozitivan trend sa porastom rednog broja homogene grupe kod hibrida dobijenih iz ukrštanja populacija sa sva tri testera. Linija trenda testera L255/75-5 je najniža što ukazuje da ovaj otac u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daje najmanju masu 1000 semena. Linije trenda testera L217 i L73B013 se gotovo preklapaju, što ukazuje da hibridi ova dva testera i populacija ispoljavaju slične mase 1000 semena, i to značajno veće nego hibridi nastali iz ukrštanja populacija sa testerom L255/75-5.



Grafikon 32. Efekat interakcije lokalnih populacija i testera za osobinu masa 1000 zrna

6.1.14. Prinos zrna

Opšti prosek za prinos zrna *test cross* hibrida iznosio je 7,476 t/ha. Iz Tabele 48 analize varijanse vidi se da su svi izvori varijacija (spoljašnja sredina, efekat oca-testera, efekat majke-populacija, kao i njihove interakcije) bili visoko statistički značajni ($p \leq 0,01$) izuzev dvostruke interakcije (spoljašnja sredina \times majka) ($p=0,8492 > 0,05$) i ponavljanja unutar spoljašnje sredine ($p=0,0486 \leq 0,05 > 0,01$). Ovakav rezultat ukazuje da postoje statistički značajne razlike ispitivanih faktora i njihovih interakcija za prinos zrna. Koeficijent varijacije oglada za ovu osobinu iznosio je 16,68% (Tabela 48).

Tabela 48. Tabela analize varijanse za prinos zrna

Izvor varijacije	Stepen slobode (df)	Suma kvadrata (SS)	Srednja vrednost kvadrata (MS)	F vrednost
Spoljašnja sredina	n-1	4002,816	667,136	429,2335 **
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	(r-1)n	22,143	3,163	2,0352 *
Efekat faktora A (otac)	k-1	157,775	78,888	50,7561 **
Spoljašnja sredina \times faktor A	(n-1)(k-1)	127,716	10,643	6,8477 **
Efekat faktora B (majka)	s-1	244,11	8,137	5,2353 **
Spoljašnja sredina \times faktor B	(n-1)(s-1)	246,277	1,368	0,8803 NZ
Efekat faktora AB	(k-1)(s-1)	192,469	3,208	2,0639 **
Spoljašnja sredina \times efekat faktora AB	(n-1)(k-1)(s-1)	657,38	1,826	1,1749 **
GREŠKA	n(r-1)(ks-1)	1000,937	1,554	CV = 16,68%
UKUPNO	N-1	6651,624		

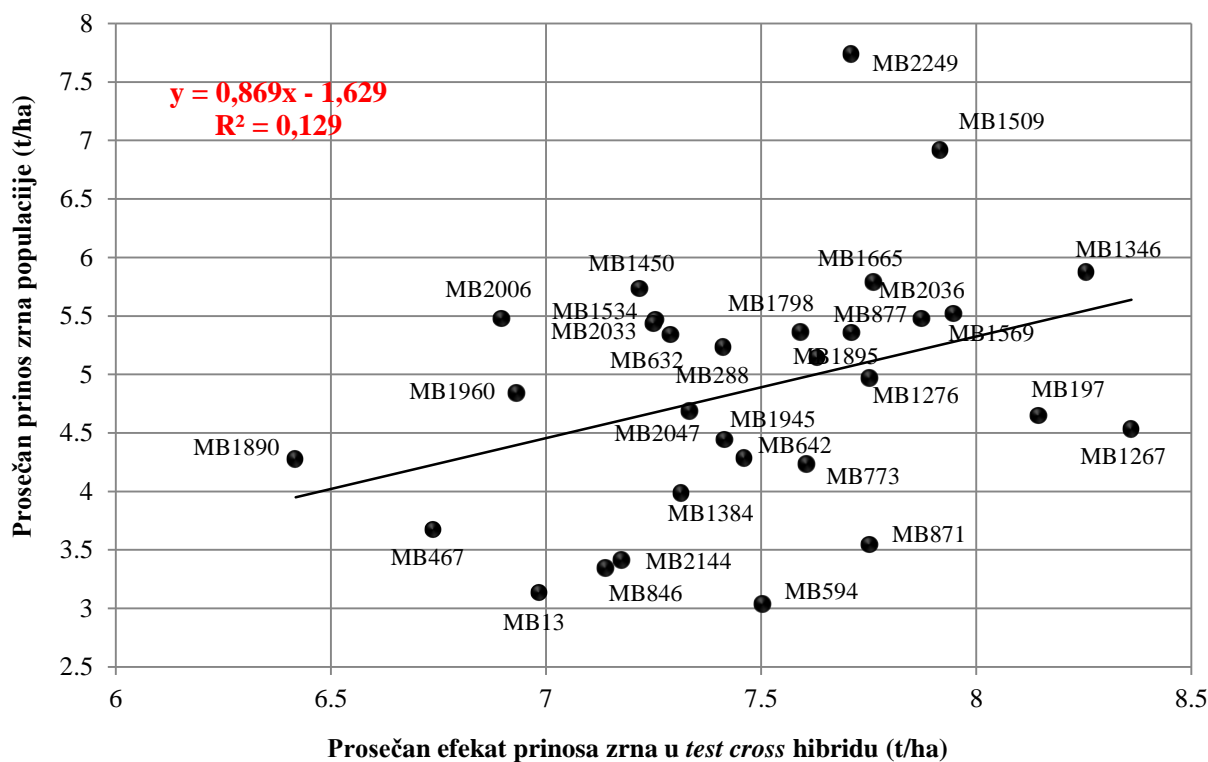
Analizom ranga efekata majke i oca, uz primenu LSD testa ($p=0,05$), utvrđeno je da populacija MB1267 (Belo seme iz okoline Cetinja, druge homogene grupe), sa intermedijarnim tipom zrna, u ukrštanjima sa sva tri testera daje najveći prinos *test cross* hibrida (8,361 t/ha), pa se može reći da je populacija MB1267 najbolji opšti kombinatori u ukrštanjima sa sva tri testera za prinos zrna. Pored visokog ranga za prinos, karakteriše je i visok rang mase 1000 semena i dubina zrna. Populacije čije se OKS nisu statistički značajno razlikovale od OKS populacije MB1267 su: MB1346, MB197, MB1569, MB1509 u tipu zubana i MB2036 u tipu poluzubana. Može se zaključiti da su se ove lokalne populacije pokazale kao najbolji opšti kombinatori za prinos zrna. S obzirom da je za sada najznačajniji oplemenjivački cilj povećanje prinosa zrna, ove populacije mogu poslužiti kao izvori datog svojstva (Tabela 49).

Tabela 49. Značajnost razlika efekta majke u *test cross* hibridima za prinos zrna (t/ha) ($LSD = 0,5342$; $\alpha = 0,05$)

Rang	Efekat lokalnih populacija (majke) u <i>test cross</i> hibridima za prinos zrna (t/ha)			
A	•	MB1267	8,361	
AB	•	MB1346	8,256	
ABC	•	MB197	8,146	
ABCD	•	MB1569	7,949	
ABCDE	••	MB1509	7,917	MB2036 7,874
BCDEF	•••	MB1665	7,763	MB871 7,754 MB1276 7,754
CDEFG	••	MB877	7,711	MB2249 7,710
CDEFGH	•	MB1895	7,631	
DEFGH	••	MB773	7,607	MB1798 7,592
DEFGHI	•	MB594	7,504	
DEFGHIJ	•	MB642	7,461	
DEFGHIJK	•	MB1945	7,416	
EFGHIJK	•	MB288	7,412	
FGHIJK	•••	MB2047	7,334	MB1384 7,315 MB632 7,291
FGHIJKL	••	MB2033	7,255	MB1534 7,251
GHIJKL	••	MB1450	7,218	MB2144 7,177
HIJKL	•	MB846	7,139	
IJKL	•	MB13	6,985	
JKLM	•	MB1960	6,932	
KLM	•	MB2006	6,898	
LM	•	MB467	6,738	
M	•	MB1890	6,418	

Sa druge strane, populacija MB1890 (prve homogene grupe), lokalnog naziva Domaći kukuruz (iz mesta Gospić – Hrvatska), u ukrštanjima sa sva tri testera daje hibride sa najmanjim prinosom zrna (6,418 t/ha). Pored ove populacije hibride malog prinosa u ukrštanjima sa sva tri testera daju i populacije MB467, MB2006 i MB1960. Ove četiri populacije su najlošiji opšti kombinatori za prinos zrna. Takođe, ove populacije pripadaju ranim populacijama, po tipu zrna tvrduncima ili sličnim tvrduncima sa prostora Bosne i Hercegovine, treće (MB467), šeste (MB2006) i četvrte (MB1960) homogene grupe. Poredeći prinos zrna populacija *per se* (Tabela 1) i njihove odgovarajuće vrednosti opšte kombinacione sposobnosti uočava se da prinos zrna

populacije *per se* u ukrštanjima sa sva tri testera daju hibride sa većim prinosom i obrnuto. Postojanje pozitivnog linearnog odnosa između prinosa zrna populacije *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS za prinos zrna (efekat populacije u *test cross* hibridu), ukazuje da je za nasleđivanje ove jako kompleksne osobine pre svega odgovorno aditivno delovanje gena. Slaba jačina koeficijenta korelacije ($r=0,3592$) ukazuje na stepen značajnosti linearne korelisanosti parametara (Grafikon 33). Međutim, iako vrednost jačine korelacije nije visoka, ona je statistički značajna ($p \leq 0,05$).



Grafikon 33. Regresija vrednosti populacije *per se* i efekta populacije u *test cross* hibridima za prinos zrna

Na osnovu rezultata LSD testa ranga efekta testera (oca) u *test cross* hibridima (Tabela 50), može se uočiti da se efekti testera L73B013 i L217 za prinos zrna statistički značajno ne razlikuju (7,752 i 7,692 t/ha, respektivno) i da u ukrštanjima sa ispitivanim populacijama daju veći prinos zrna hibrida, u poređenju sa testerom L255/75-5 koji daje statistički značajno manji prinos zrna hibrida (6,985; $p \leq 0,05$).

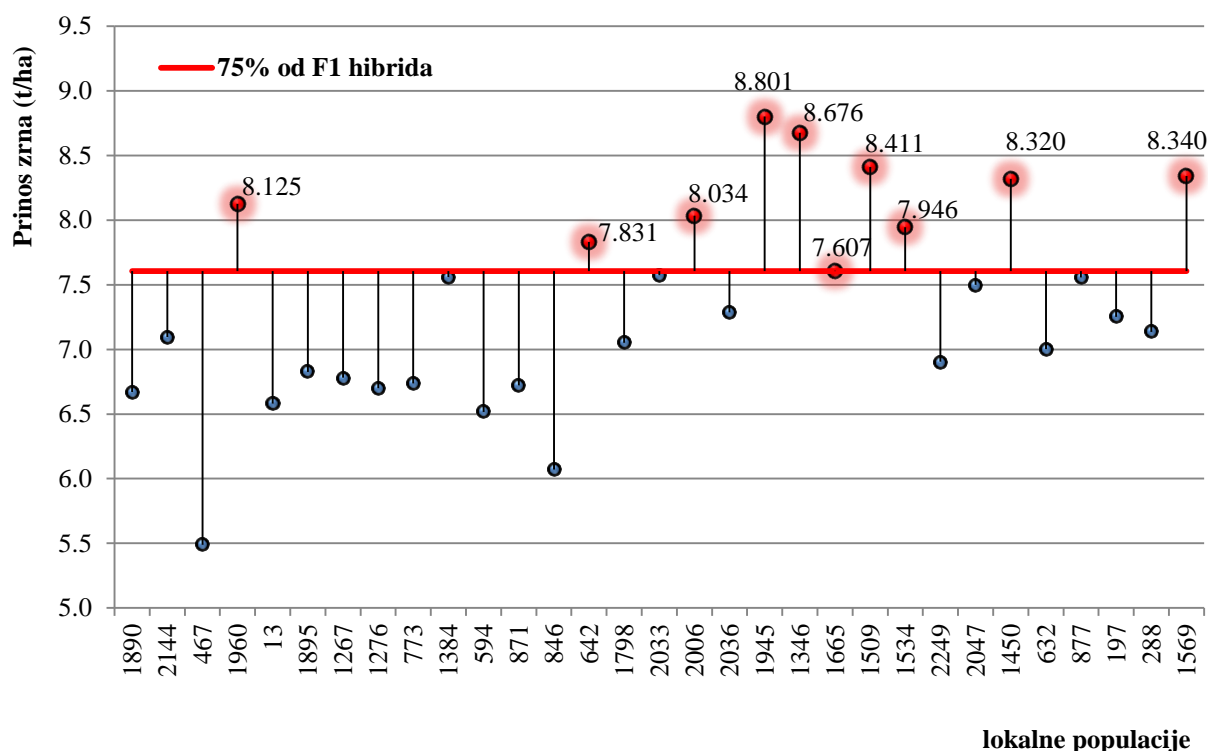
Tabela 50. Značajnost razlika efekta oca (testera) u *test cross* hibridima za prinos zrna (t/ha) ($LSD = 0,1662$; $\alpha = 0,05$)

Rang		Efekat testera (oca) u <i>test cross</i> hibridima za prinos zrna (t/ha)			
A	••	L73B013	7,752	L217	7,692
B	•	L255/75-5	6,985		

Posmatrajući efekte elitnih inbred linija (testera), očigledno je da su lokalne populacije dale najbolje rezultate ukrštanjem sa L73B013 (87,5% BSSS \times 12,5% Iova Dent), klasifikovanim kao sintetik heterotične grupe Iova Stiff Stalk (Tabela 50). Takođe, može se videti da se prinos zrna u ukrštanjima sa L217 (Iova Dent) ne razlikuje značajno. To se očekivalo u određenoj meri, pošto

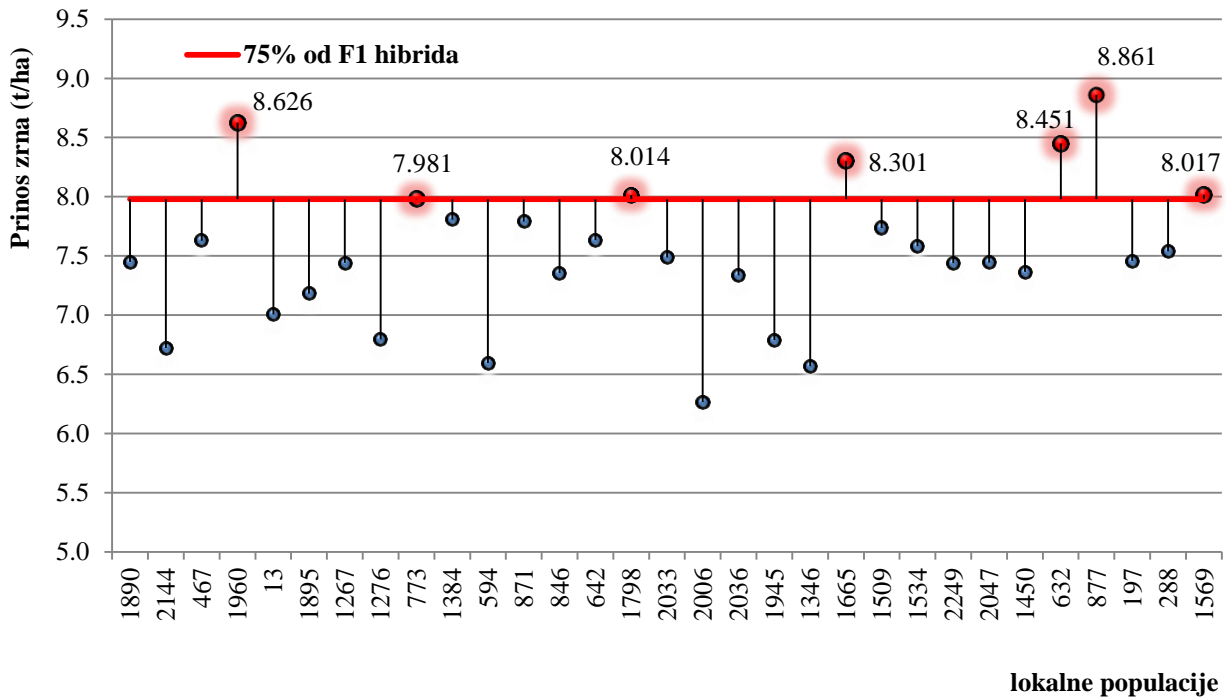
inbred tester L217 i L73B013 dele zajedničku germplazmu (tj. 12,5% *Iova Dent*). Međutim, dobijen je značajno niži prinos zrna ($p \leq 0,05$) ukrštanjem sa L255 / 75-5 (*Lancaster*).

Pored informacija o opštoj kombinacionoj sposobnosti, važno je znati i posebnu kombinacionu sposobnost (kako se prikazuju osobine pojedinačnih populacija u ukrštanjima sa svakim pojedinačnim testerom) za prinos zrna. Kod populacija, pojava hibridne bujnosti direktno je proporcionalna promeni heterozigotnosti koja je u visokoj korelaciji sa prinosom. Verovatnoća da alel daje heterozigot u ukrštanju populacije, koja je u ravnoteži (populacijski ekvilibrijum, $p=q=0,5$) za jedan lokus (25% AA : 50% Aa : 25% aa), sa inbred linijom i fiksnim lokusom (100% AA ili 100% aa) je 75% (Halauer et al., 2010). Stoga je 75% od prinosa *single cross* hibrida uzeto kao referentna vrednost za ispoljavanje heterozisa. S obzirom da je prinos složena osobina i da nisu svi aleli koji određuju prinos populacije u ravnoteži, *test cross* hibridi mogu da pokazuju nižu/višu vrednost prinosa u poređenju sa referentnom. Naime, *test cross* hibridi dobijeni ukrštanjem lokalnih populacija (MB1960, MB642, MB2006, MB1945, MB1346, MB1569, MB1450, MB1346, MB1534, MB1509 i MB1665) sa L217 inbred linijom (testerom *Iova Dent* heterotične osnove), postigli su prinos iznad referentne linije (7,605 t/ha). Najprinosnija kombinacija MB1945 × L217 ispoljila je 87% prinosa hibrida F1 (8,801 t/ha) (Grafikon 34).



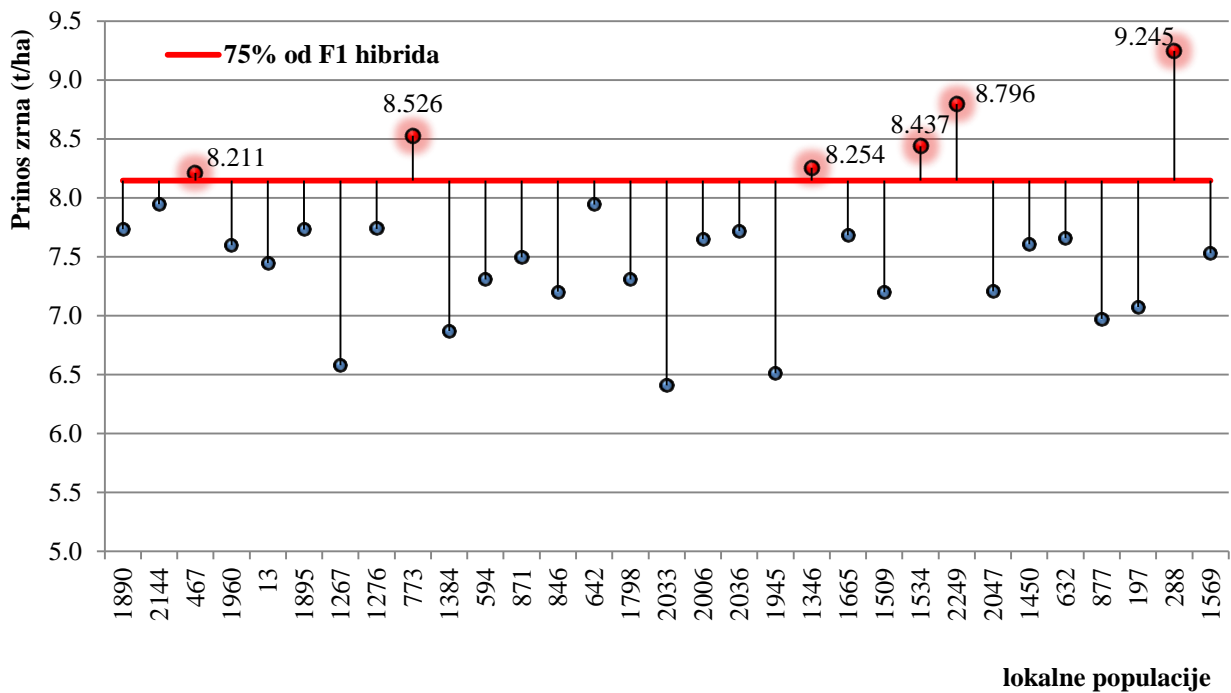
Grafikon 34. Posebna kombinaciona sposobnost (PKS) za prinos zrna ispitivanih populacija kukuruza u ukrštanjima sa inbred testerom L217

Lokalne populacije MB1960, MB773, MB1798, MB1665, MB632, MB877 i MB1569 ispoljile su heterozis za prinos zrna u ukrštanjima sa inbred linijom L73B013 (testerom *BSSS* × *Iova Dent* heterotične osnove). Referentna vrednost (tj. 75% F1 hibrida datog testera) bila je 7,980 t/ha. Najveći prosečni prinos (8,861 t/ha) u ukrštanjima sa ovim testerom ispoljila je lokalna populacija MB877 (Grafikon 35).



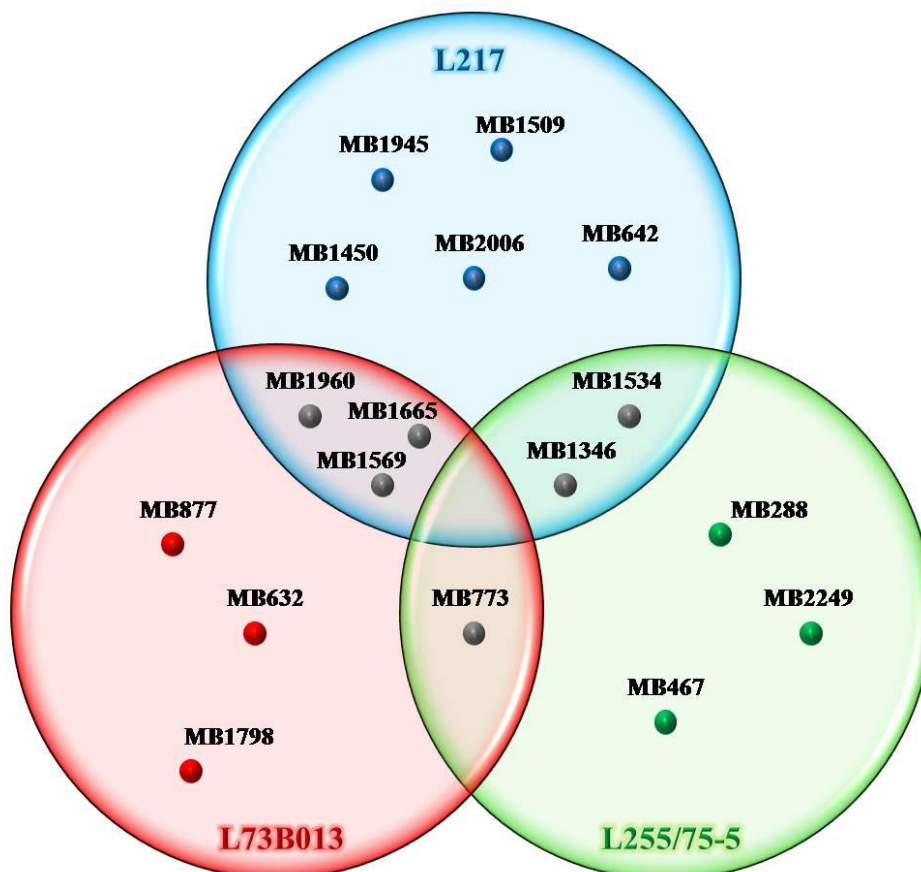
Grafikon 35. Posebna kombinaciona sposobnost (PKS) za prinos zrna ispitivanih populacija kukuruza u ukrštanjima sa inbred testerom L73B013

Referenti prinos dobijen na osnovu 75% prosečnog prinosa F1 hibrida u ukrštanju sa inbred testerom L255/75-5 iznosio je 8,145 t/ha. Može se zaključiti da su lokalne populacije MB467, MB773, MB1346, MB1534, MB2249 i MB288 pokazale heterozis u ukrštanjima sa linijom L255/75-5 (*Lancaster* heterotične osnove). Lokalna populacija MB288 je dala najveći prosečan prinos u ukrštanjima sa ovim testerom (9,245 t/ha) (Grafikon 36).



Grafikon 36. Posebna kombinaciona sposobnost (PKS) za prinos zrna ispitivanih populacija kukuruza u ukrštanjima sa inbred testerom L255/75-5

Primećeno je da određeni broj lokalnih populacija kukuruza ispoljava heterotični efekat sa dva inbred testera, dok nijedna nije ispoljila heterotični efekat sa sva tri inbred testera. U određenoj meri se to i očekivalo, budući da su inbred linije (tester) odabrani na način da predstavljaju tri glavne heterotične grupe koje se koriste u komercijalnim programima oplemenjivanja kukuruza. Tako su se lokalne populacije MB1960, MB1665 i MB1569 dobro kombinovale sa L217 i L73B013. Lokalne populacije MB1534 i MB1346 su ispoljile heterotični efekat ukrštanjem sa L217 i L255/75-5, dok je heterotični efekat u ukrštanjima sa L73B013 i 255/75-5 postigla populacija MB773 (Grafikon 37).



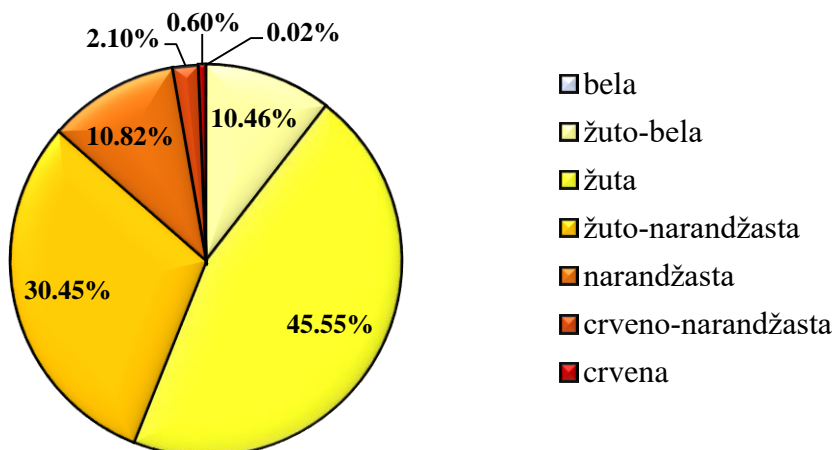
Grafikon 37. Heterotični efekat lokalnih populacija kukuruza u ukrštanju sa ispitivanim testerima

Lokalne populacije MB1346, MB1569 i MB1509, osim što pokazuju visoke vrednosti OKS, takođe su ispoljile i visoku posebnu kombinacionu sposobnost (PKS) ukrštanjem sa određenim inbred testerima. Populacija MB1346 je ispoljila heterotični efekat ukrštanjem sa inbred testerima L217 i L255/75-5, populacija MB1569 sa inbred testerima L217 i L73B013, dok se populacija MB1509 dobro kombinovala sa inbred testerom L217. Posebno je zanimljiva populacija MB1346, koja se pored visoke OKS, dobro kombinuje sa dva inbred testera koji su roditeljske komponente jednog komercijalnog F1 hibrida. Pored toga, posebna pažnja bi trebalo da se posveti i populaciji polutvrduca MB773, koja istovremeno ispoljava heterotični efekat u ukrštanjima sa divergentnim testerima (L73B013 i L255/75-5) koji su roditeljske komponente komercijalnog F1 hibrida.

6.2. Rezultati analize kvalitativnih (deskriptivnih) osobina *test cross* hibrida

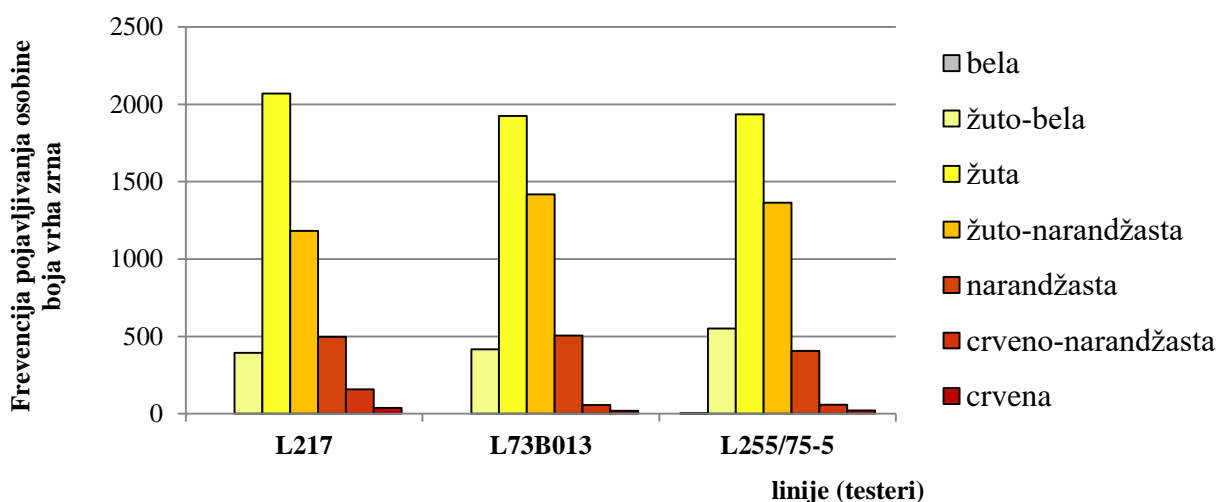
6.2.1. Boja vrha zrna

Osobina boja vrha zrna, definisana UPOV deskriptorom za kukuruz u devet kategorija, kod ispitivanog materijala javljala se u sledećih sedam kategorija: bela, žuto-bela, žuta, žuto-narandžasta, narandžasta, crveno-narandžasta i crvena. Od ukupnog broja ocenjenih klipova *test cross* hibrida (13020) pribeležene kategorije su procentualno iznosile 0,02; 10,5; 45,5; 30,5; 10,8; 2,1; i 0,6% respektivno (Grafikon 38). Kategorije koji se nisu javljale, a obuhvaćene su deskriptorom su tamno crvena i plavo crna boja vrha zrna.



Grafikon 38. Procentualno učešće pojedinačnih kategorija boje vrha zrna u odnosu na ukupan broj ocenjivanih klipova

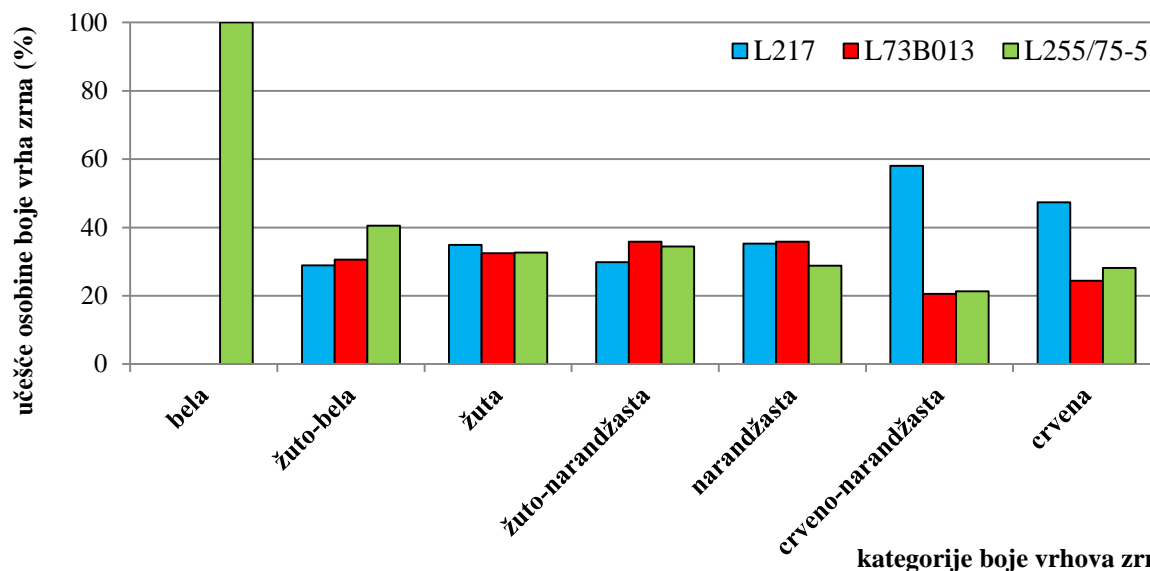
Uočava se da se bela boja vrha zrna pojavljuje jedino u potomstvu testera L255/75-5 i to u veoma malom procentu (0,02%), odnosno u frekvenciji 3 klipa od ukupno ocenjivanih 13020 (Grafikoni 38).



Grafikon 39. Frekvencija pojavljivanja pojedinačnih kategorija po testeru za osobinu - boja vrha zrna

Iz Grafikona 39 se može uočiti da je kod sva tri testera najveća frekvencija pojavljivanja klipova kategorije žuta boja vrha zrna, koja je iznosila 5930 klipova (2070 za L217, 1924 za L73B013 i 1936 za L255/75-5) i žuto-narandžasta boja koja je iznosila 3965 klipova (1182 za L217, 1419 za L73B013 i 1364 za L255/75-5); a najmanja za crvenu boju 78 klipova (37, 19, 22 klipova

respektivno). Takođe, interesantno je da potomstvo iz ukrštanja populacija i testera L255/75-5 ima veće učešće u kategoriji bela boja (100%) i žuto-bela boja (40,50%), dok potomstvo populacija i testera L217 ima značajno veće učešće u kategorijama crveno-narandžasta (58,10%) i crvena (47,40%), u odnosu na testere L73B013 i L255/75-5 u tim kategorijama. Procentualno učešće sva tri testera je gotovo podjednako zastupljeno u kategorijama žute, žuto-narandžaste i narandžaste boje vrha zrna (Grafikon 40).



Grafikon 40. Procentualno učešće potomstva određenog testera u datim kategorijama za osobinu - boja vrha zrna

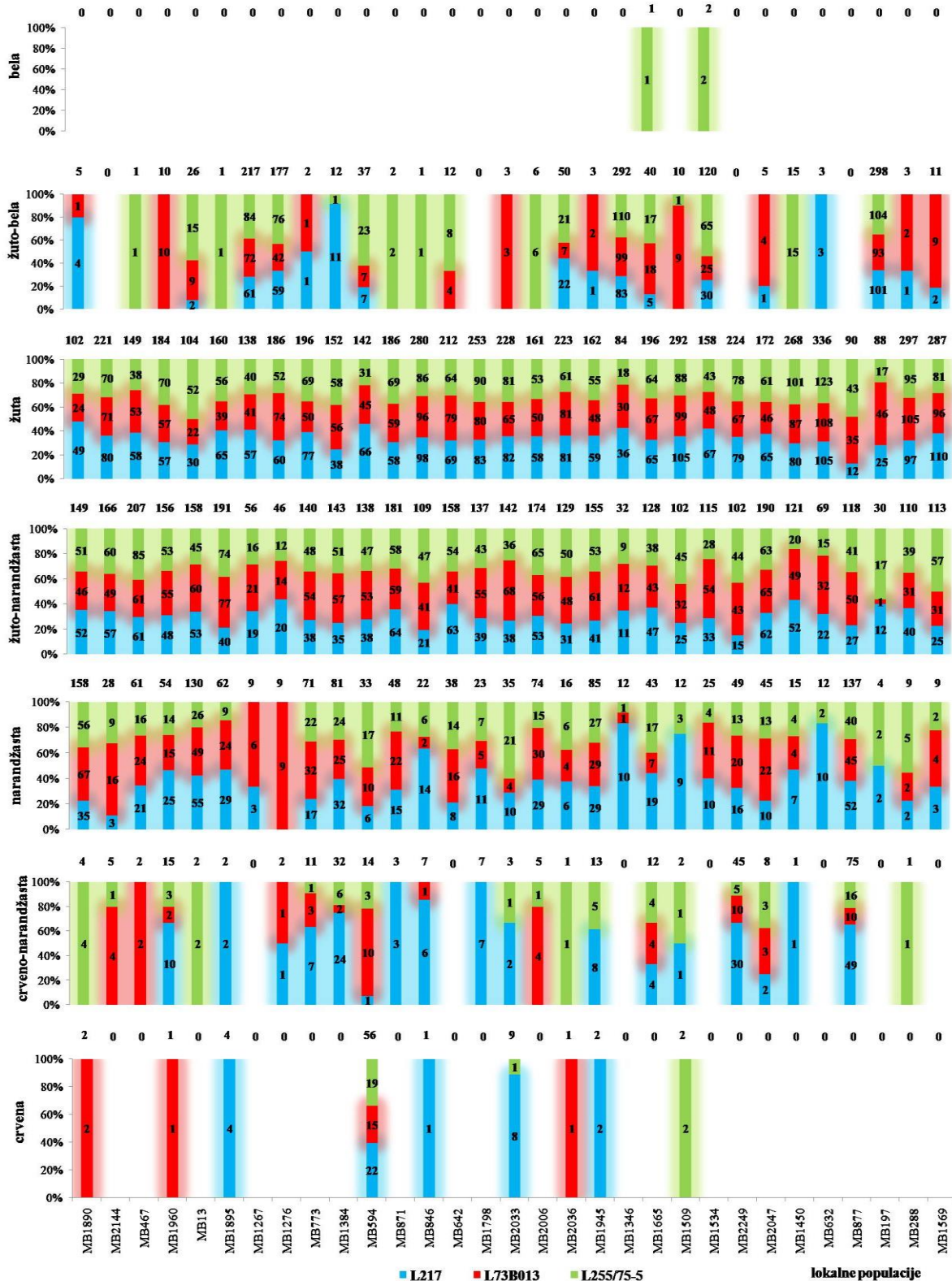
Na Grafikonu 41 predstavljena je interakcija populacija i testera za boju vrha zrna. Na apscisi su dati nazivi populacija (majki), a testeri su predstavljeni različitom bojom. Brojevi unutar stubića određene boje (testera) su frekvencije klipova date kategorije sa tim testerom, dok su brojevi iznad stubića frekvencije klipova u datoj kategoriji iz ukrštanja neke od populacija sa sva tri testera. Na grafikonima se može uočiti da su kod većine populacija frekvencije pojavljivanja žute i žuto-narandžaste kategorije najveće, a najmanje frekvencije bele i crvene boje.

Kategorija bela boja vrha zrna jedino se javlja u interakciji lokalnih populacija MB1665 i MB1534 sa testerom L255/75-5. Druga kategorija (žuto-bela boja vrha zrna) se javlja u interakciji sa skoro svim lokalnim populacijama, ali najčešće u malim frekvencijama. Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dale su populacije MB1267, MB1346 i MB197 i to 217, 292 i 298 klipova respektivno. Takođe se može videti da je najčešće najveći udeo od ukupnog broja klipova potomstva određene populacije, u kategoriji žuto-bela, udeo iz ukrštanja sa testerom L255/75-5, što se može videti po udelu zelene boje u stubićima, ali i po frekvencijama. Na primer, kod populacije MB1267, od ukupnog broja klipova u kategoriji žuto-bela (217), 84 klipa su iz ukrštanja sa testerom L255/75-5. U ovoj kategoriji interakcije ne postoje kod lokalnih populacija MB2144, MB1798, MB2249 i MB877, odnosno ove populacije nisu u ukrštanjima sa tri testera dale klipove u kategoriji žuto-bela boja vrha zrna.

Najveće frekvencije u kategoriji žuta boja vrha zrna utvrđene su kod populacija MB632, MB288 i MB1509 i to 338, 297 i 292 klipa, respektivno. Frekvencije pojavljivanja žuto-narandžaste boje vrha zrna su takođe visoke kod potomstva gotovo svih populacija izuzev onih čije potomstvo je dalo visoke frekvencije u kategoriji žuto-bele boje vrha zrna, kao što su populacije MB1267, MB1276, MB1346 i MB197.

U kategoriji narandžasta boja vrha zrna najveću frekvenciju dala su ukrštanja populacija MB1890, MB13 i MB877 sa sva tri testera i to 158, 130 i 137 klipova, respektivno. Uočava se najmanji uticaj testera L255/75-5 na narandžastu boju zrna.

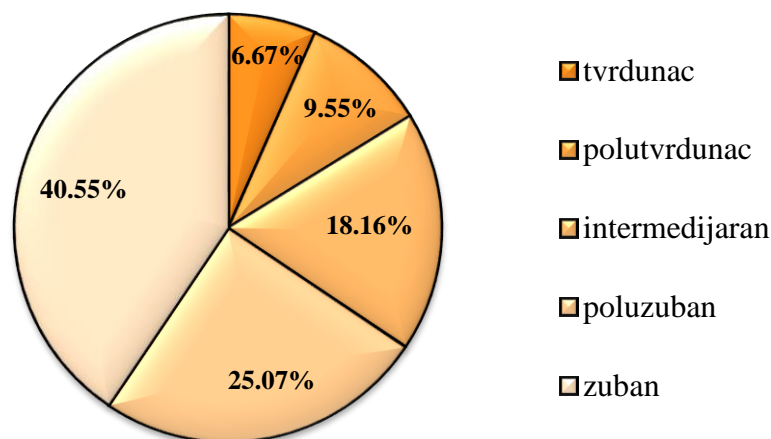
Znatno je niža frekvencija klipova crveno-narandžaste i crvene boje vrha zrna. Najveća frekvencija (75 klipova) crveno-narandžaste boje utvrđena je u *test cross* hibridima populacije MB877, a crvena kod *test cross* hibrida populacije MB594 (56 klipova) sa frekvencijama 22 za L217, 15 za L73B013 i 19 klipova za L255/75-5. Na Grafikonu 41 se takođe vidi da je najveći uticaj testera L217 na frekvenciju pojavljivanja crveno-narandžaste boje kod populacija MB877 (49 klipova), MB2249 (30 klipova) i MB1384 (24 klipa) i crvene boje vrha zrna.



Grafikon 41. Interakcija lokalnih populacija i testera za boju vrha zrna (frekvencija i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama)

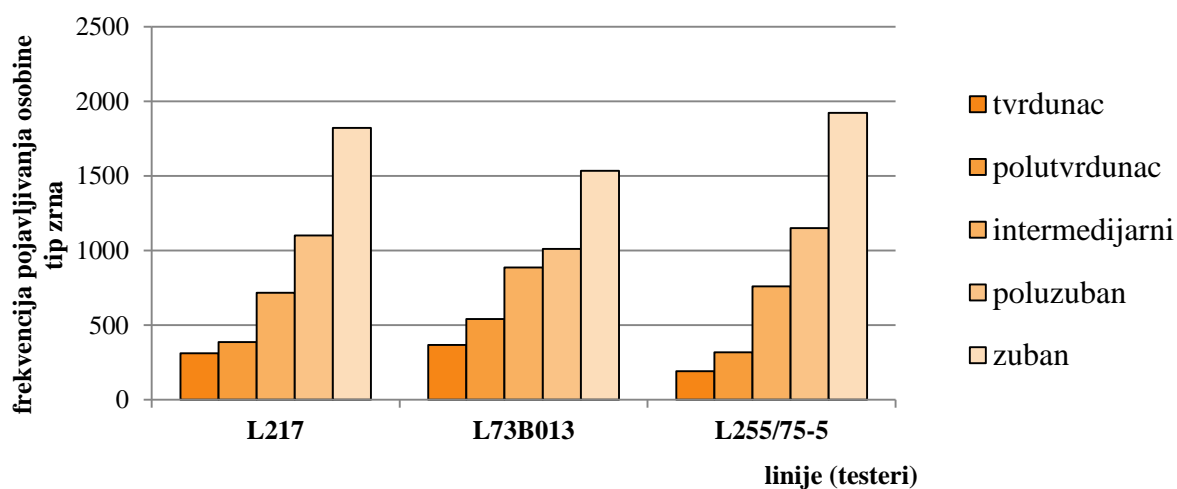
6.2.2. Tip zrna

Osobina tip zrna, javlja se u pet od sedam kategorija koje su definisane UPOV deskriptorom za kukuruz. Kod ispitivanog materijala zabeležene su kategorije: tvrdunac, polutvrđunac, prelazni ili intermedijarni tip, poluzuban i zuban, a od ukupnog broja ocenjenih klipova *test cross* hibrida (13020) pribeležene kategorije su procentualno iznosile 6,67; 9,55; 18,16; 25,07; i 40,55% respektivno (Grafikon 42). Kategorije koji se nisu javljale, a obuhvaćene su deskriptorom su šećerci i tvrdunci u tipu kokičara.



Grafikon 42. Procentualno učešće pojedinačnih kategorija tipova zrna u odnosu na ukupan broj ocenjivanih klipova

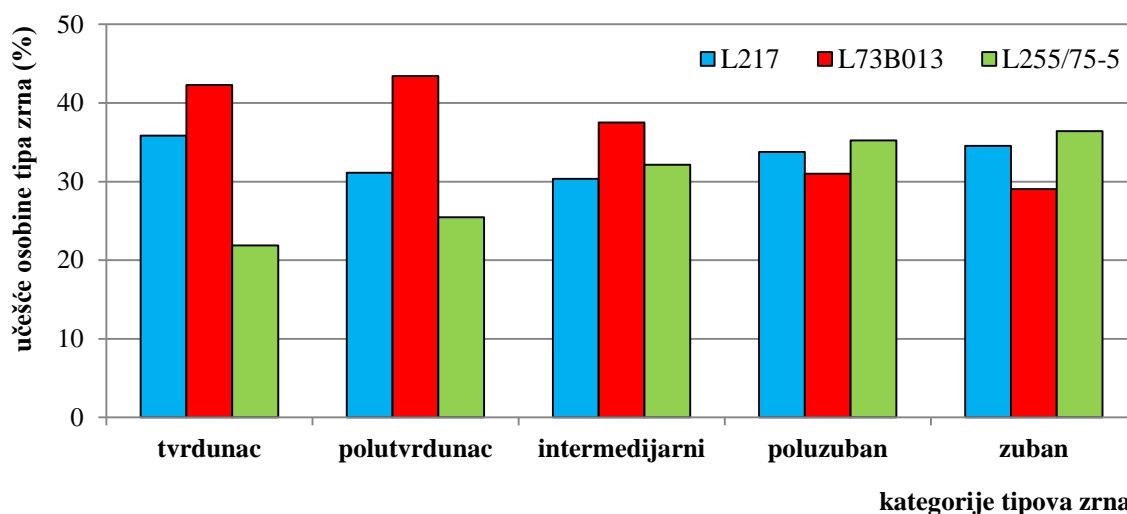
Može se uočiti da je frekvencija pojavljivanja kategorije zubana (> 1500 klipova od 13020) najveća kod sva tri testera (1823 za L217, 1534 za L73B013 i 1923 za L255/75-5), a najmanja za tvrdunce i to 868 klipova (311, 367 i 190 klipova respektivno). Takođe, može se uočiti da se tvrdunci i polutvrđunci procentualno pojavljuju znatno više u potomstvu testera L73B013 (42,28% i 43,41%, respektivno), odnosno sa frekvencijom od 367 i 540 klipova od ukupno ocenjivanih 13020 (Grafikoni 43 i 44).



Grafikon 43. Frekvencija pojavljivanja pojedinačnih kategorija po testeru za osobinu – tip zrna

Međutim, dominantno učešće testera L73B013 prisutno je i u kategoriji intermedijarni tip zrna sa procentualni učešćem od 37,52%. Učešće testera L255/75-5 postepeno se procentualno povećava i dostiže maksimalno učešće u kategoriji zubana sa 36,42%, tako da predstavlja najveće

učešće u ovoj kategoriji u odnosu na ostale testere. Isti trend zabeležen je i u kategoriji poluzubana. Procentualno učešće testera L217 u ukrštanju sa populacijama najviše je uočeno kod kategorije tvrdunaca 35,83% i kod kategorije zubana 34,53%, dok je najmanje zabeleženo u kategoriji intermedijarnog (prelaznog) tipa.



Grafikon 44. Procentualno učešće potomstva određenog testera u datim kategorijama za osobinu - tip zrna

Na Grafikonu 45 predstavljena je interakcija populacija i testera za tip zrna. Na apscisi su dati nazivi populacija (majki), a testeri su predstavljeni različitim bojom. Brojevi unutar stubića određene boje (testera) su frekvencije klipova date kategorije sa tim testerom, dok su brojevi iznad stubića frekvencije klipova u datoj kategoriji iz ukrštanja neke od populacija sa sva tri testera. Na grafikonima se može uočiti da su kod većine populacija najveće frekvencije pojavljivanja kategorija zubana i poluzubana, a najmanje frekvencije tvrdunaca i polutvrđunaca. Kategorija intermedijarni ili prelazni tip javlja se prilično ujednačeno kod testera L217 i L255/75-5, dok značajnu prednost ima linija L73B013.

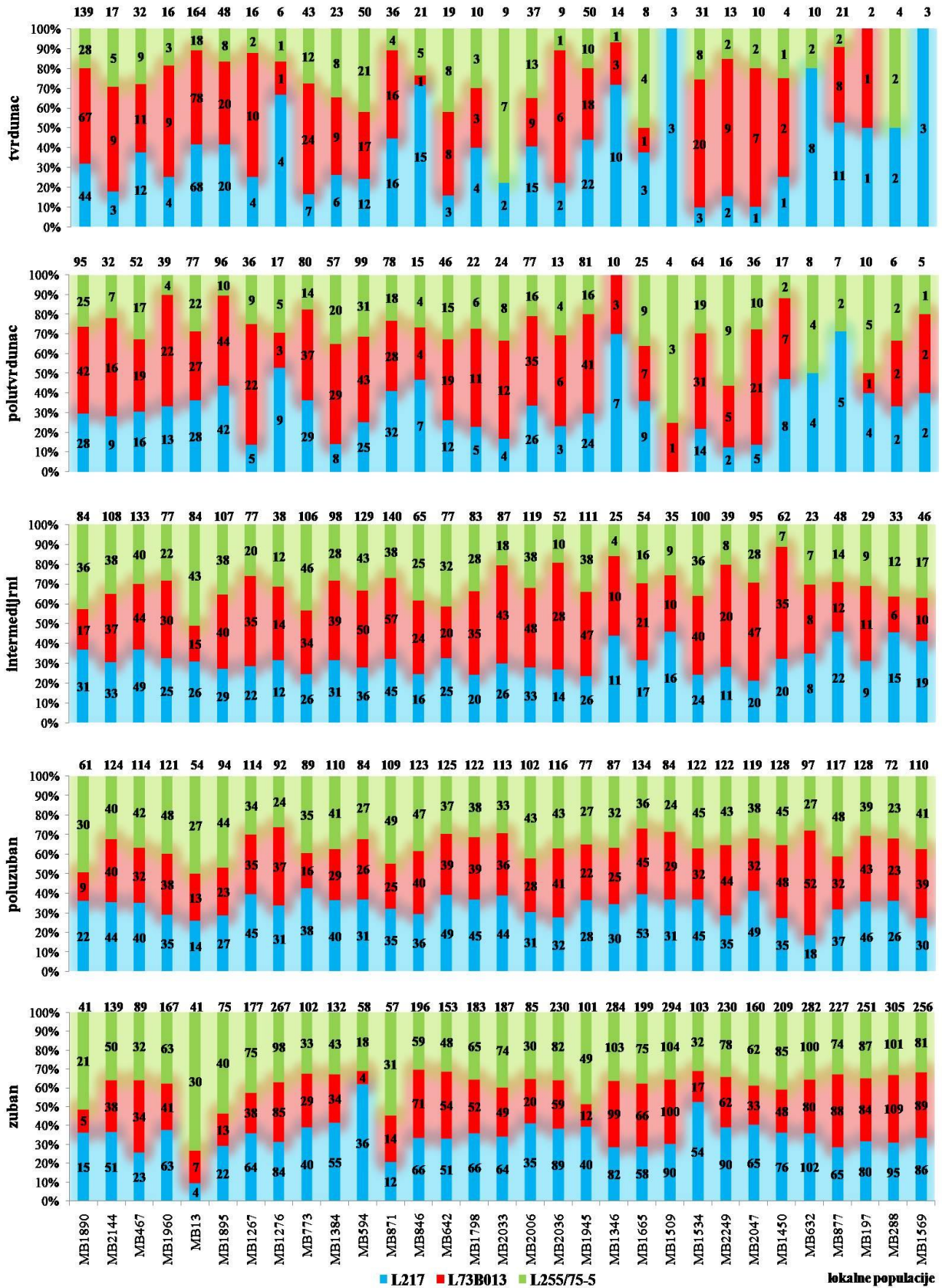
Kategorija tvrdunaca se javlja u interakciji sa svim lokalnim populacijama, ali najčešće u malim frekvencijama (do 50). Međutim, ne javlja se sa svim testerima, tako da nema nijedne zabeležene frekvencije u kategoriji tvrdunaca pri ukrštanju populacija MB2033, MB632 i MB288 sa testerom L73B013, kao i kod populacija MB1509 i MB1569 sa testerima L73B013 i L255/75-5. Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dale su populacije MB1890 i MB13, i to 139 i 164 klipa, respektivno. Nezavisno od populacije sa kojom je ukršten, frekvencije testera L73B013 su dominirale, dok je učešće potomstva testera L255/75-5 bilo najmanje.

Najveće frekvencije u kategoriji polutvrđunaca prabeležene su kod populacija MB594, MB1895, MB1890, MB1945 i MB773, i to 99, 96, 95, 81 i 80 klipova, respektivno. Ostale populacije i njihove frekvencije kreću se ispod 80 klipova. Takođe, nisu zapažene frekvencije u kategoriji polutvrđunaca pri ukrštanju populacija MB632 i MB877 sa testerom L73B013; populacije MB1509 sa testerom L217, kao i populacije MB1346 sa L255/75-5.

Najveće frekvencije u intermedijarnom (prelaznom) tipu prabeležene su kod populacija MB871, MB467, MB594, MB2006, MB1945, MB2144, MB1895, MB773 i MB1534, i to 140, 133, 129, 119, 111, 108, 107, 106 i 100 klipova, respektivno. Ostale populacije i njihove frekvencije kreću se ispod 100 klipova. Treba napomenuti da u kategoriji intermedijarni (prelazni tip), visoke frekvencije zadržavaju populacije koje su imale izrazito visoke frekvencije u kategorijama tvrdunac i polutvrđunac (MB1890, MB1895, MB773, MB594, MB1945).

U kategoriji poluzubana, frekvencije se značajno uvećavaju u genotipovima dužeg vegetacionog perioda. Najveće frekvencije u tipu poluzubana zapažene su kod populacija MB1665 (134), MB1450 i MB197 (128), MB642 (125), MB2144 (124), MB846 (123), MB1798, MB1534 i

MB2249 (122) i MB1960 (121). Ostale populacije i njihove frekvencije kreću se ispod 120 klipova. U ovoj kategoriji najmanju frekvenciju ima populacija MB13 (54), a koja ima najveću frekvenciju u kategoriji tvrđunac (164).



Grafikon 45. Interakcija lokalnih populacija i testera za tip zrna (frekvencija i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama)

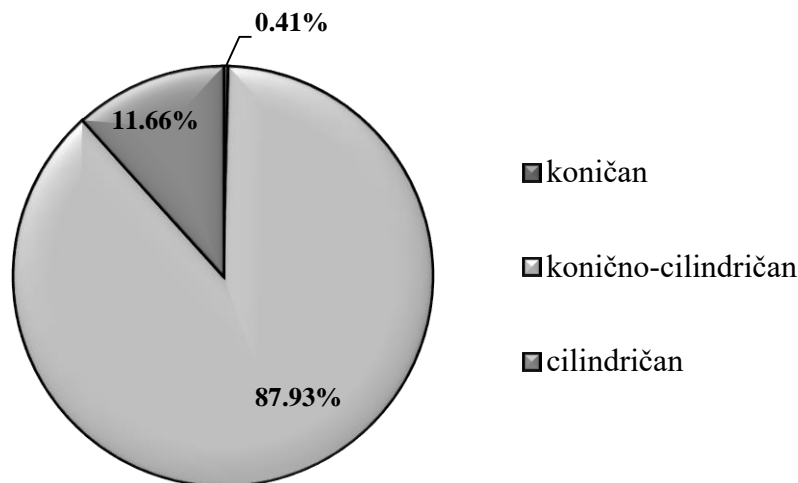
U kategoriji zubana, frekvencije se još značajnije uvećavaju u genotipovima dužeg vegetacionog perioda i to preko 200 klipova. Najveće frekvencije u tipu zubana zabeležene su kod populacija MB288 (305), MB1509 (294), MB1346 (284), MB632 (282), MB1276 (267), MB1569 (256), MB197 (251), MB2036 i MB2249 (230), MB1450 (209). U ovoj kategoriji najmanju frekvenciju imaju populacije MB1890 i MB13 (41), koje su najveći broj klipova dale u kategoriji tvrdunaca.

Na Grafikonu 45 se takođe vidi da je uticaj testera L217 i L255/75-5 veći na frekvenciju pojavljivanja zubana, dok je procentualni odnos frekvencija između sva tri testera (34,53% za L217, 29,05% za L73B013 i 36,42% za L255/75-5) u kategoriji poluzubana relativno ujednačen.

Međutim, primetno je da sa rastom frekvencije jedne kategorije opada druga, i obrnuto. Populacije kasnijeg zrenja daju veće frekvencije u kategoriji zubana od populacija ranijeg zrenja kod kojih dominantno veću frekvenciju ima kategorija tvrdunaca.

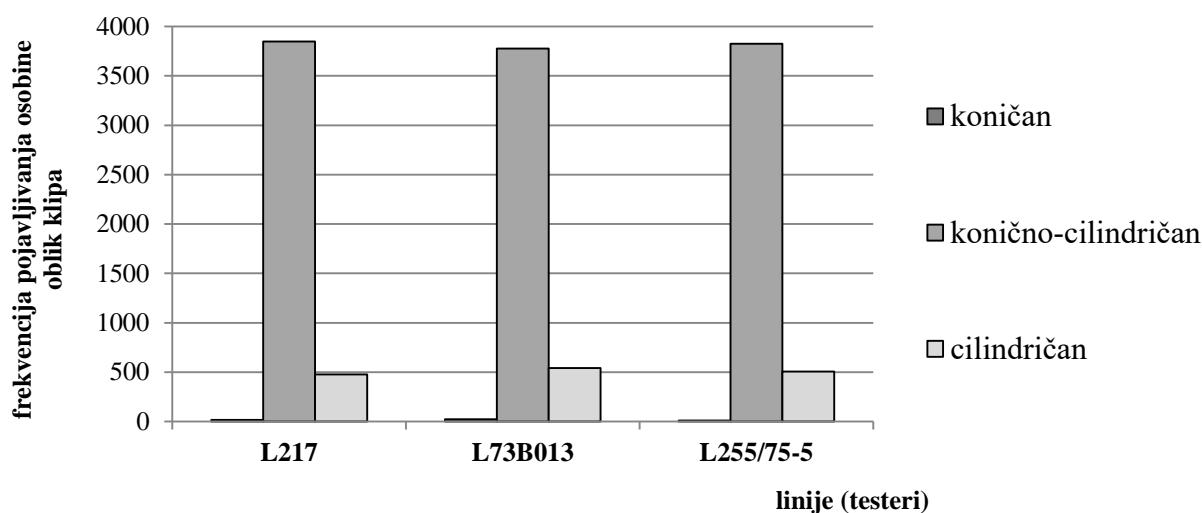
6.2.3. Oblik klipa

Osobina oblik klipa javlja se u sve tri kategorije koje su definisane UPOV deskriptorom za kukuruz. Kod ispitivanog materijala zabeležene su kategorije: koničan, konično-cilindričan i cilindričan oblik klipa, a od ukupnog broja ocenjenih klipova *test cross* hibrida (13020) uočene kategorije su procentualno iznosile 0,41; 87,93 i 11,66% respektivno (Grafikon 46).

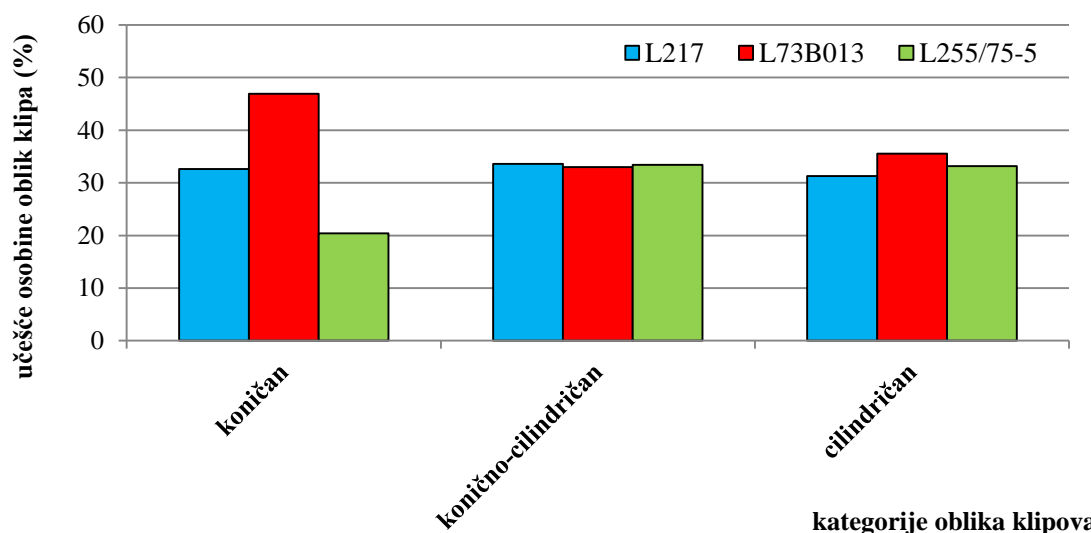


Grafikon 46. Procentualno učešće pojedinačnih kategorija oblika klipa u odnosu na ukupan broj ocenjivanih klipova

Varijabilnost oblika klipa, koju potencijalno nosi populacija pri ukrštanju sa sva tri testera dolazi do izražaja u *test cross* hibridu, te se javlja u različitim frekvencijama. Iako je procentualno učešće koničnog oblika klipa generalno nisko (0,41%) u odnosu na ispitivane testere, najveći procentualni odnos javlja se u ukrštanju populacija sa testerom L73B013 (46,94%), a najmanji sa L255/75-5 (20,41%) (Grafikon 48). Iz Grafikona 47 se može uočiti da je frekvencija pojavljivanja kategorije konično-cilindričnog oblika klipa ubedljivo najveća kod sva tri testera (3848 za L217, 3776 za L73B013 i 3825 za L255/75-5 ili ukupno 11449 klipova od 13020). Frekvencija pojave cilindričnog oblika klipa skoro je podjednaka kod sva tri testera (oko 500 klipova po testeru) ili ukupno 1522 klipa od 13020.



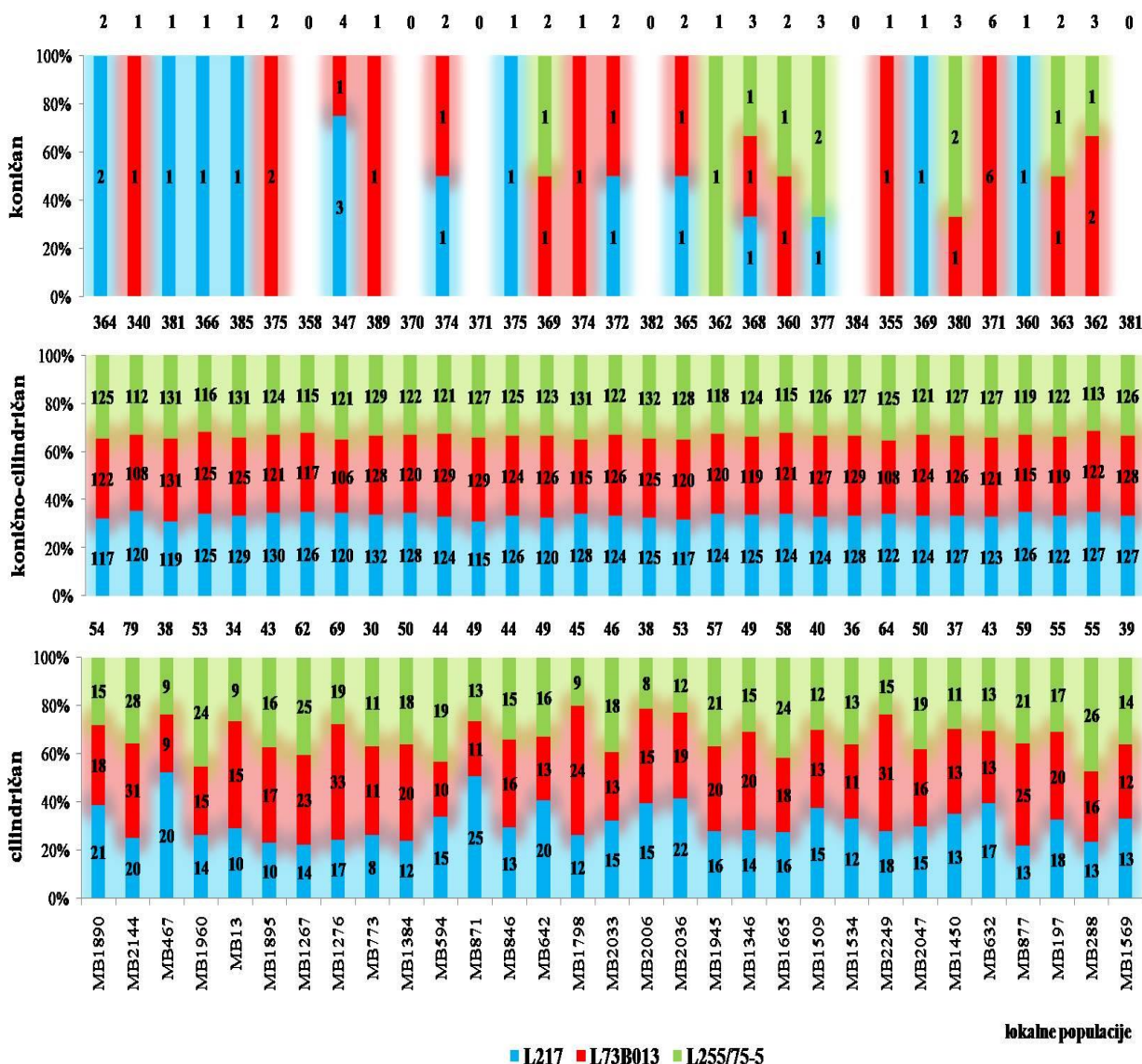
Grafikon 47. Frekvencija pojavljivanja pojedinačnih kategorija po testeru za osobinu – oblik klipa



Grafikon 48. Procentualno učestće potomstva određenog testera u datim kategorijama za osobinu - oblik klipa

Na Grafikonu 49 predstavljena je interakcija populacija i testera za oblik klipa. Na apscisi su dati nazivi populacija (majki), a testeri su predstavljeni različitim bojom. Brojevi unutar stubića određene boje (testera) su frekvencije klipova date kategorije sa tim testerom, dok su brojevi iznad stubića frekvencije klipova u datoj kategoriji iz ukrštanja neke od populacija sa sva tri testera. Na grafikonima se može uočiti da su kod većine populacija najveće frekvencije pojavljivanja u kategoriji konično-cilindričan oblik klipa, a najmanje frekvencije kod koničnog oblika klipa. Kategorija cilindričan oblik klipa je zastupljena sa manjom frekvencijom (1522) u odnosu na cilindrično-koničan oblik (11449) koji je u ukrštanjima sa svim populacijama i testerima relativno ravnomerno zastupljen.

Kategorija koničan oblik klipa se ne pojavljuje u ukrštanju populacija MB1267, MB1384, MB871, MB2006 i MB1534 sa sva tri ispitivana testera. Ova kategorija se u ukrštanju populacija sa testerom L73B013 javlja sa frekvencijom 23 klipa, sa testerom L217 sa frekvencijom od 16 klipova, a sa testerom L255/75-5 sa frekvencijom 10 klipova, i to dužeg vegetacionog perioda. Dakle, u ovoj kategoriji nezavisno od testera, pojavilo se 49 klipova od ukupo 13020 klipova. Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dale su populacije MB632 (sa testerom L73B013 - 6 klipova) i MB1276 (sa testerom L217 - 3 klipa i sa L73B013 - 1 klip).



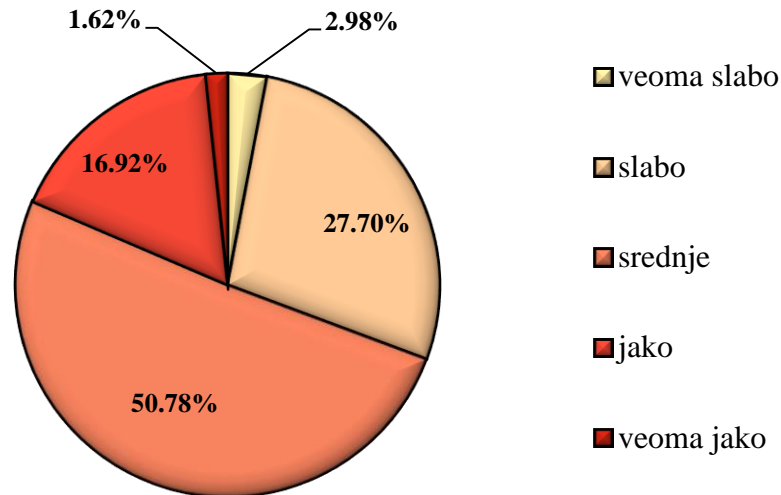
Grafikon 49. Interakcija lokalnih populacija i testera za oblik klipa (frekvencija i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama)

Druga kategorija (konično-cilindričan oblik klipa) se javlja u interakciji sa svim lokalnim populacijama i to sa izrazito visokim frekvencijama (>300 klipova po populaciji). Kod ove kategorije procentualni udeo sva tri testera je relativno ujednačen (33,61% za L217, 32,98% za L73B013 i 33,41% za L255/75-5). Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dale su populacije MB773 (389), MB13 (385), MB2006 (382), MB467 (381), MB1569 (381) i populacija MB1450 (380 klipova, respektivno). Populacija MB2144 bila je sa najmanjom frekvencijom od 340 klipova za sva tri testera u ovoj kategoriji.

Treća kategorija (cilindričan oblik klipa) se javlja u interakciji sa populacijama značajno nižih frekvencija (ne većim od 79 klipova), a može se reći da je procentualni udeo sva tri testera relativno ujednačen, osim u pojedinim populacijama gde je nešto više izražen jedan od testera (npr. udeo testera L217 je izraženiji kod populacija MB467 (20), MB871 (25) i MB642 (20); tester L73B013 je izraženiji kod populacija MB1276 (33), MB1798 (24) i MB2249 (31); udeo testera L255/75-5 je izraženiji kod populacija MB1960 (24), MB1665 (24) i MB288 (26) itd.) Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dala je populacija MB1276 (69 klipova), tako što je sa testerom L217 dala 17 klipova, sa L73B013 je dala 33 klipa, a sa L255/75-5 je dala 19 klipova. Ostale populacije MB2249 i MB1367 su imale frekvencije 64 i 62 klipa, respektivno. Populacija MB773 bila je sa najmanjom frekvencijom od 30 klipova za sva tri testera u ovoj kategoriji.

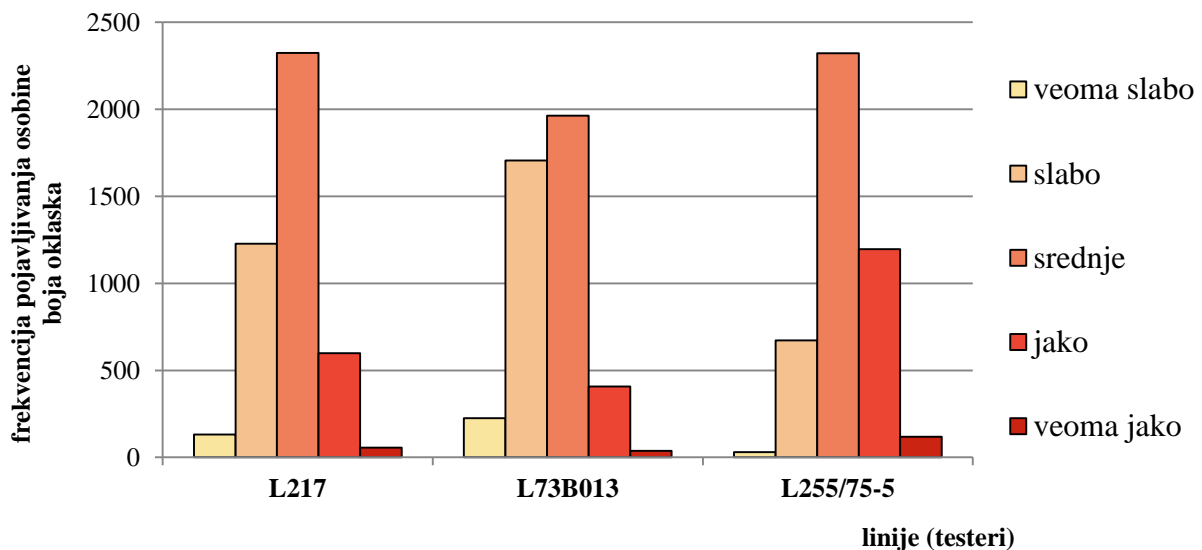
6.2.4. Intenzitet antocijanskog obojenja plevica oklaska (boja oklaska)

Osobina intenzitet antocijanskog obojenja plevica oklaska ili kraće boja oklaska, javlja se u svih pet kategorija, numerički označenih od jedan do devet, a koje su definisane UPOV deskriptorom za kukuruz. Kod ispitivanog materijala zabeležene su kategorije: veoma slabo obojenje, slabo obojenje, srednje obojenje, jako obojenje i veoma jako obojenje, a od ukupnog broja ocenjivanih klipova *test cross* hibrida (13020) utvrđene kategorije su procentualno iznosile 2,98; 27,70; 50,79; 16,92 i 1,61%, respektivno (Grafikon 50).



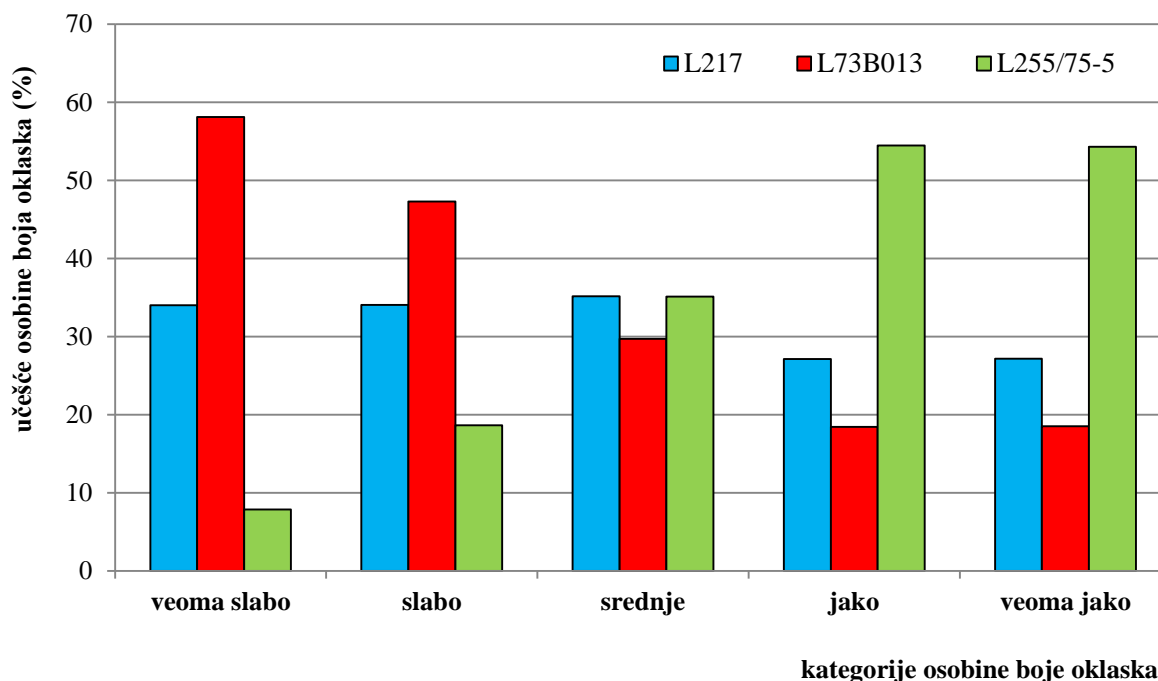
Grafikon 50. Procentualno učešće pojedinačnih kategorija boja oklaska u odnosu na ukupan broj ocenjivanih klipova

Može se uočiti da je kod sva tri testera najveća frekvencija pojavljivanja klipova u kategoriji srednje obojenje oklaska, koja iznosi 6612 klipova (2325 sa L217, 1964 sa L73B013 i 3323 sa L255/75-5), od ukupno ispitivanih 13020 klipova. Generalno posmatrano, veoma slabo i veoma jako obojenje oklaska karakterišu izrazito niske frekvencije (388 i 211 klipova, respektivno), dok su najveće frekvencije zabeležene kod kategorija slabog (3606) i srednjeg (6612) obojenja kao i nešto manje frekvencije kod jakog obojenja (2203), posmatrano za sva tri testera (Grafikon 51).



Grafikon 51. Frekvencija pojavljivanja pojedinačnih kategorija po testeru za osobinu – boja oklaska

Najveći udeo kategorija veoma slabo i slabo obojenje oklaska javljaju se u kombinaciji populacija i testera L73B013 (57,99% i 47,31% respektivno), a najmanje sa testerom L255/75-5 (7,99% i 18,64%, respektivno) (Grafikon 52). Potomstvo iz ukrštanja populacija i testera L255/75-5 ima veće učešće u kategorijama jakog i veoma jakog obojenja oklaska (54,29% i 56,40%, respektivno), dok je učešće istih kategorija najmanje u ukrštanju sa testerom L73B013 (18,52% i 17,54%, respektivno).



Grafikon 52. Procentualno učešće potomstva određenog testera u datim kategorijama za osobinu - boja oklaska

Na Grafikonu 53 predstavljena je interakcija populacija i testera za boju oklaska. Na apscisi su dati nazivi populacija (majki), a testeri su predstavljeni različitim bojom. Brojevi unutar stubića određene boje (testera) su frekvencije klipova date kategorije sa tim testerom, dok su brojevi iznad stubića frekvencije klipova u datoj kategoriji iz ukrštanja neke od populacija sa sva tri testera.

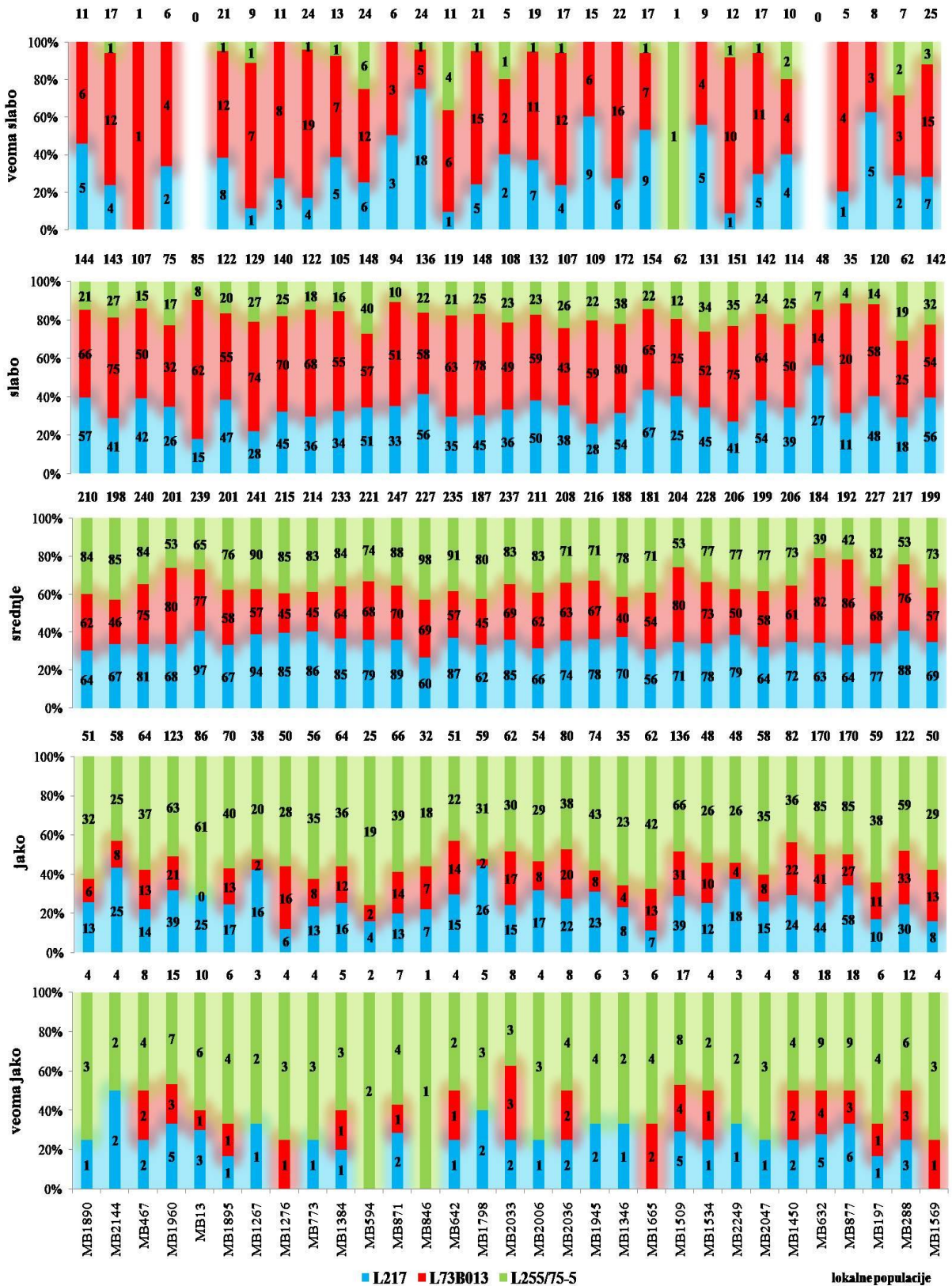
Kategorija veoma slabo obojenje oklaska javlja se u gotovo svim kombinacijama populacija sa najmanje jednim od testera, jedino se ne javlja ni sa jednim testerom u interakciji lokalnih populacija MB13 i MB632. Najveće frekvencije klipova u ovoj kategoriji dale su populacije MB1569 (25), MB773, MB594 i MB846 (24), MB1346 (22), MB1798 i MB1895 (21), dok su ostale frekvencije po populaciji manje od 20 klipova posmatrano za sva tri testera.

U kategoriji slabo obojenje oklaska dominantno je učešće potomstva testera L73B013. Frekvencije pojavljivanja ove kategorije su uglavnom veće od 100 klipova po populaciji, osim kod populacija MB13, MB1960, MB871, MB1509, MB632, MB877 i MB288 i to 75, 85, 94, 62, 48, 35 i 62 klipa, respektivno. Najveće frekvencije u ovoj kategoriji dale su populacije MB1346, MB1665 i MB2249 i to 172, 154 i 151 klip, respektivno.

U kategoriji srednje obojenje oklaska značajno se smanjuje učešće testera L73B013, a povećava učešće testera L255/75-5. Primetno je i da su veće frekvencije klipova u ovoj kategoriji zastupljene kod ranog materijala i uglavnom su veće od 200 klipova po populaciji. Najveće frekvencije u ovoj kategoriji su kod populacija MB871, MB1267, MB467, MB13, MB2033, MB642 i MB1384, i to 247, 241, 240, 239, 237, 235 i 233 klipa, respektivno. Najmanju frekvenciju imaju populacije MB1665 i MB632, i to 181 i 184 klipa, respektivno.

Najveće frekvencije u kategoriji jako obojenje oklaska zabeleženo je kod populacija MB632, MB877, MB1509, MB1960 i MB288, i to 170, 170, 136, 123 i 122 klipa, respektivno.

Ostale populacije i njihove frekvencije kreću se ispod 100 klipova. Takođe, nisu zapažene frekvencije u kategoriji jako obojenje oklaska pri ukštanju populacija MB13 sa testerom L73B013. Međutim, treba napomenuti i populacije sa najmanjom frekvencijom klipova u ovoj kategoriji, kao što su MB594 (25), MB846 (32), MB1346 (35) i MB1267 (38), respektivno.

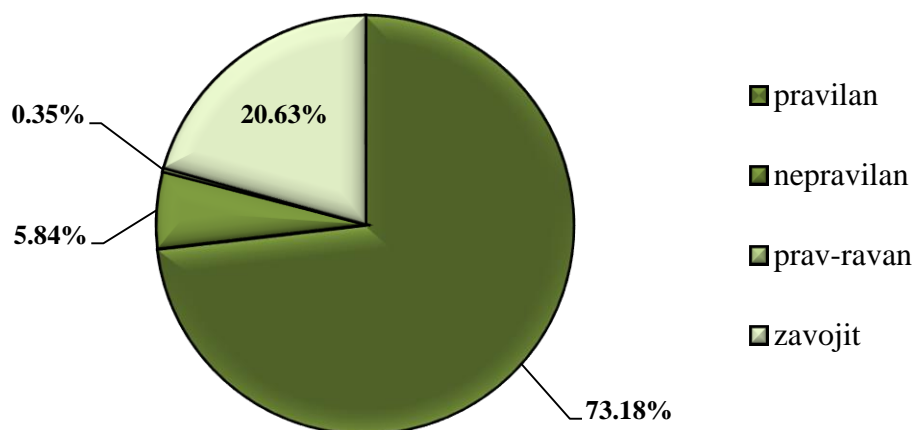


Grafikon 53. Interakcija lokalnih populacija i testera za boju oklaska (frekvencija i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama)

Dominantno procentualno učešće potomstva i testera L255/75-5 je izraženo u kategoriji veoma jakog obojenja oklaska. Međutim, primećena je mala (≤ 18 klipova) ukupna frekvencija klipova po populaciji (za sva tri testera) kategorije jakog obojenja oklaska u odnosu na ostale kategorije. Najveće frekvencije u ovoj kategoriji primećene su kod populacija MB632 i MB877 (18), zatim kod populacija MB1509 (17), MB1960 (15), MB288 (12) i MB13 (10); dok su kod ostalih populacija frekvencije ispod 10 klipova u kombinaciji sa jednim, a najčešće sa dva testera. Najmanje frekvencije sa najvećim udelom testera L255/75-5 u ovoj kategoriji dobijeno je sa populacijom MB846 (1) i MB594 (2).

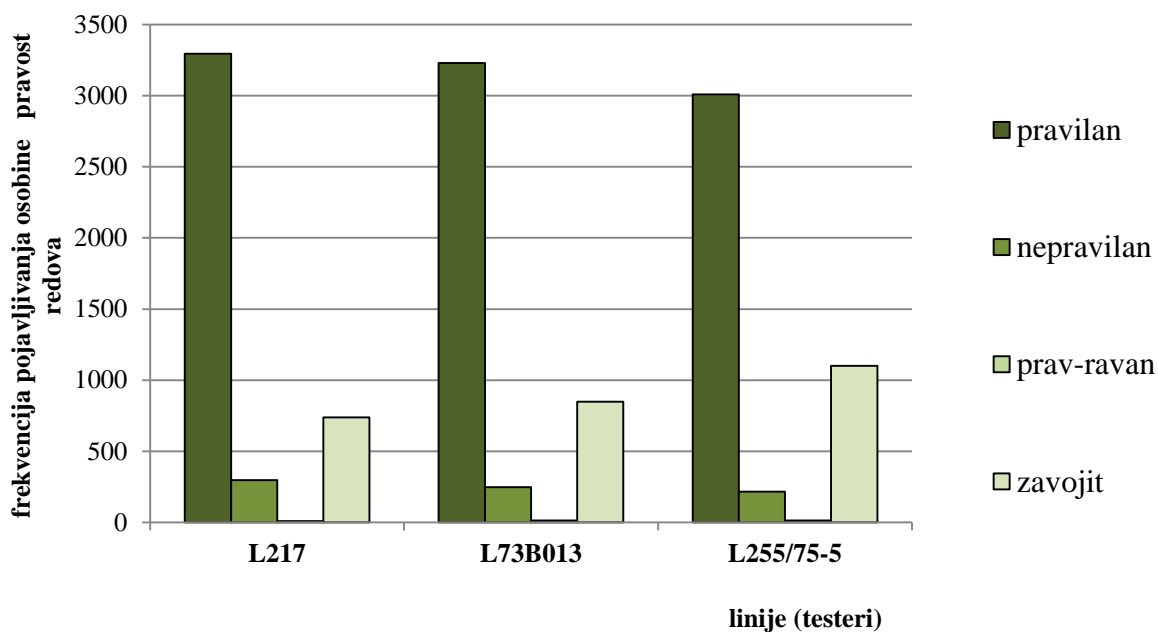
6.2.5. Pravost redova zrna na klipu

Osobina pravost redova zrna na klipu (tj. pravost redova), javlja se u sve četiri kategorije numerički označene od jedan do četiri, a koje su definisane CIMMYT/IBPGR deskriptorom za kukuruz. Kod ispitivanog materijala zabeležene su kategorije: pravilan, nepravilan, prav-ravan i zavojit (spiralan) raspored redova zrna na klipu, a od ukupnog broja ocenjivanih klipova *test cross* hibrida (13020) utvrđene kategorije su procentualno iznosile 73,18%; 5,84%; 0,35% i 20,63%, respektivno (Grafikon 54).

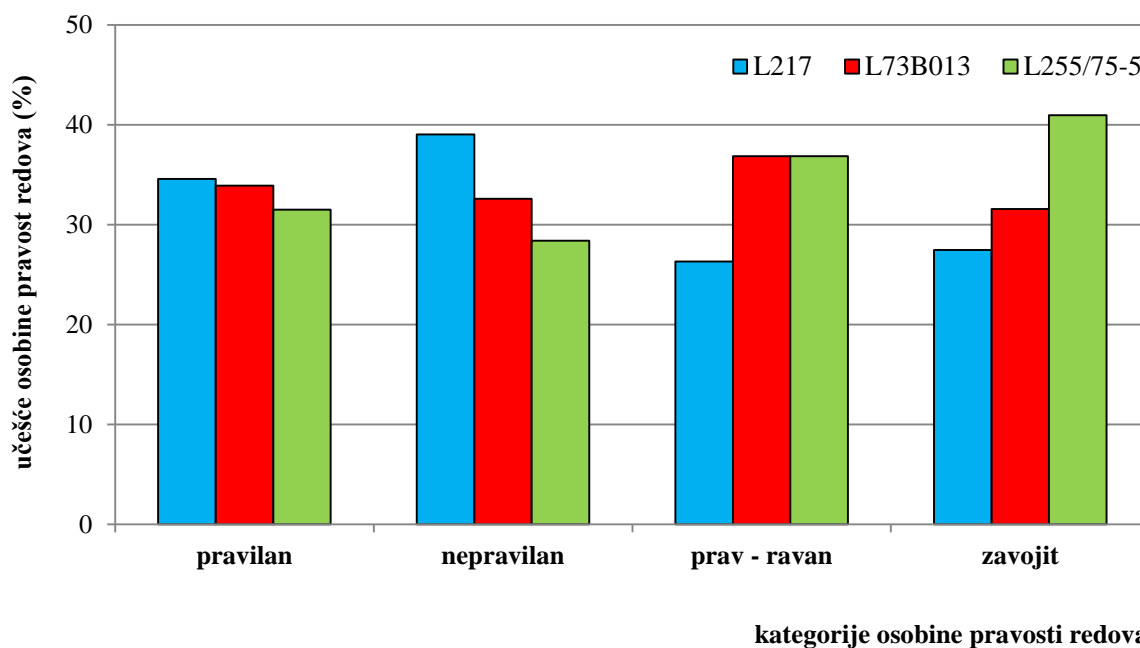


Grafikon 54. Procentualno učešće pojedinačnih kategorija pravost redova zrna na klipu u odnosu na ukupan broj ocenjivanih klipova

Uočava se da se pravilan raspored redova zrna pojavljuje u potomstvu sa sva tri testera i to u izrazito velikom procentu (73,18%), odnosno u frekvenciji 9535 klipova od ukupno ocenjenih 13020 (Grafikoni 54 i 55). Iz grafikona se može uočiti da je pojavljivanje nepravilno raspoređenih redova zrna kod sva tri testera sa frekvencijom 761 klip od 13020. Najmanju frekvenciju za sva tri testera ima prav-ravan raspored redova zrna (karakterističan za osmake) (Grafikon 55). Udeo ove kategorije je najmanji kod potomstva testera L217 (26,32%), dok je kod testera L73B013 i L255/75-5 iznosio 36,84% (Grafikon 56). Posmatrajući istu kategoriju na osnovu frekvencija klipova koja se javlja po testerima L217, L73B013 i L255/75-5; vrednosti su iznosile 10, 14 i 14 klipova, respektivno, tj. 38 klipova od ukupnih 13020. Takođe, interesanto je da potomstvo iz ukrštanja populacija i testera L255/75-5 ima veće učešće kategorije zavojit (spiralan) raspored redova zrna (40,95%), dok potomstvo populacija i testera L217 ima veće učešće u kategoriji nepravilno raspoređenih redova zrna (39,03%). Najmanje klipova sa nepravilnim rasporedom redova zrna (28,38%) utvrđeno je u potomstvu iz ukrštanja populacija i testera L255/75-5 (Grafikon 56).



Grafikon 55. Frekvencija pojavljivanja pojedinačnih kategorija po testeru za osobinu – pravost redova zrna na klip

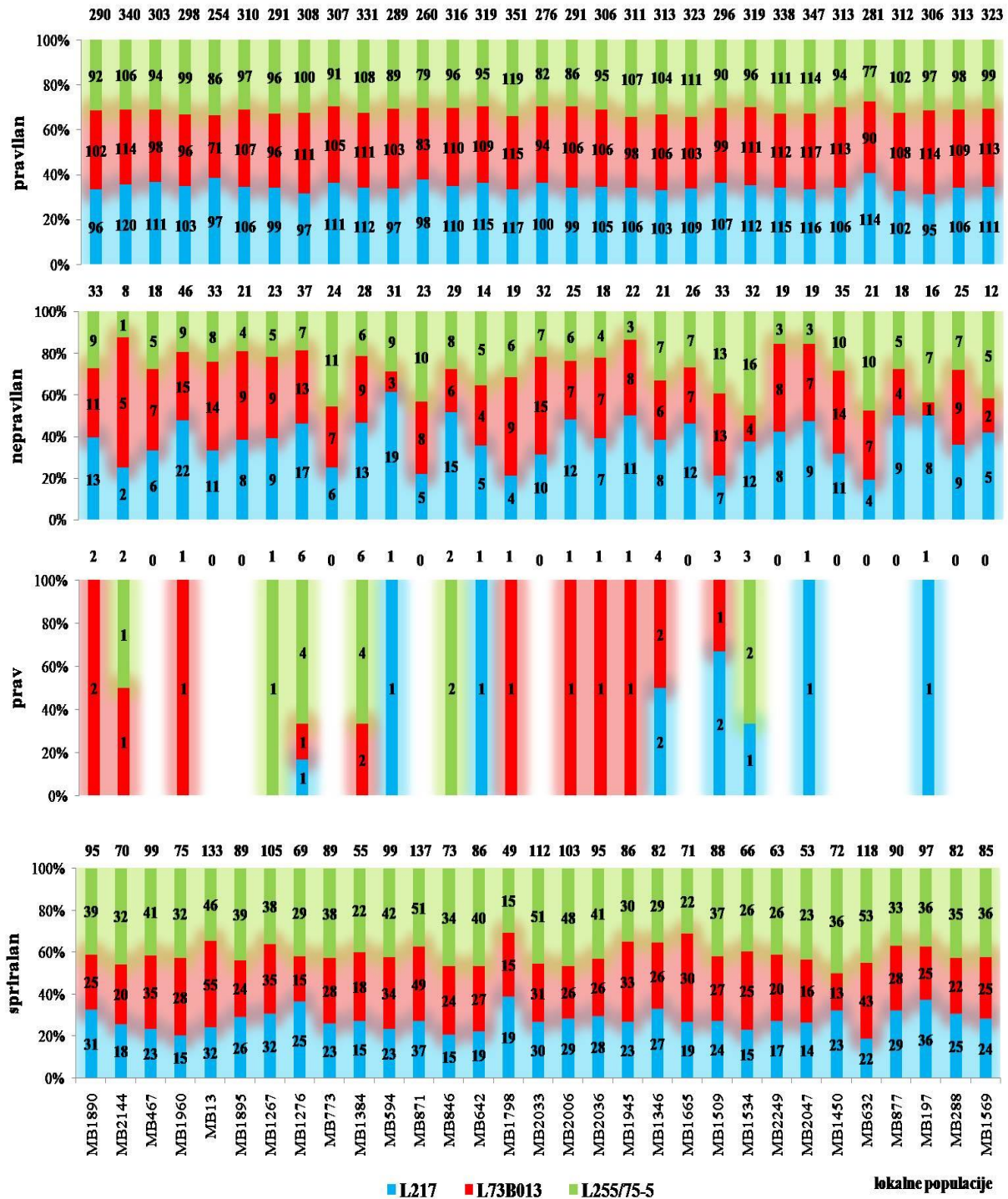


Grafikon 56. Procentualno učešće potomstva određenog testera u datim kategorijama za osobinu – pravost redova zrna na klip

Na Grafikonu 57 predstavljena je interakcija populacija i testera za pravost redova zrna. Na apscisi su dati nazivi populacija (majki), a testeri su predstavljeni različitim bojom. Brojevi unutar stubića određene boje (testera) su frekvencije klipova date kategorije sa tim testerom, dok su brojevi iznad stubića frekvencije klipova u datoj kategoriji iz ukrštanja neke od populacija sa sva tri testera.

Na grafikonu se može uočiti da su kod većine populacija najveće frekvencije kod pravilnog rasporeda redova zrna, a najmanje frekvencije kod pravo-ravnog i nepravilnog rasporeda redova zrna. Najveće frekvencije u kategoriji pravilan raspored redova zrna zapažen je kod populacija MB1798, MB2047, MB2144, MB2249 i MB1384 (351, 347, 340, 338 i 331 klip, respektivno). Najmanje frekvencije u ovoj kategoriji ostvarene su kod populacija MB13 i MB871 (254 i 260

klipova, respektivno), a čije su frekvencije najveće u kategoriji spiralan raspored redova zrna. Kod ove kategorije procentualni udeo sva tri testera je relativno ujednačen (34,58% za L217, 33,90% za L73B013 i 31,52% za L255/75-5).



Grafikon 57. Interakcija lokalnih populacija i testera za pravost redova zrna na klipju (frekvencija i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama)

Kategorija nepravilan raspored redova zrna na klipju se javlja u interakciji sva tri testera sa svim lokalnim populacijama, ali najčešće sa malim frekvencijama (do 46). Najveće frekvencije klipova (>30 klipova) u ovoj kategoriji dale su populacije MB1960 (46), MB1276 (37), MB1450 (35), MB1890, MB13 i MB1509 (33), MB2033 i MB1534 (32) i MB594 (31) klipova, respektivno.

Nešto veća frekvencija ove kategorije zapažena je kod *test cross* hibrida iz ukrštanja populacija sa testerom L217 (297 klipova) u odnosu na ostale testere. U ovoj kategoriji populacije MB2144 i MB1569 u ukrštanju sa sva tri testera bile su sa najmanjom frekvencijom od 8 i 12 klipova, respektivno.

Kategorija prav-ravan raspored redova zrna je oblik koji se sreće u tipu osmaka. U ovoj kategoriji najveće frekvencije su imale populacije MB1276 i MB1384, i to po 6 klipova, zatim MB1346 (4) i MB1509 i MB1534 sa po 3 klipa. U potomstvu ostalih populacija mogao se naći po jedan, eventualno dva klipa. Treba napomenuti da postoji 13 od 31 lokalne populacije u čijem potomstvu nije zabeležen nijedan klip iz ove kategorije, a to su: MB467, MB13, MB1895, MB773, MB871, MB2033, MB1665, MB2249, MB1450, MB632, MB877, MB288 i MB1569.

Značajno veće frekvencije pored kategorije pravilan ima i kategorija zavojit (spiralan) raspored redova zrna. U ovoj kategoriji frekvencije nisu veće od 137, dok je primetno da su značajno veće frekvencije pri ukrštanjima populacija sa testerom L255/75-5 u odnosu na ostale. Najveće frekvencije klipova (>100 klipova) u ovoj kategoriji dale su populacije MB871 (137), MB13 (133), MB632 (118), MB2033 (112), MB1267 (105) i MB2006 (103) klipova, respektivno. S druge strane, najniže vrednosti dale su populacije MB1798, MB2047 i MB1384 i to 49, 53 i 55 klipova, respektivno.

6.3. Rezultati analize SSR markera

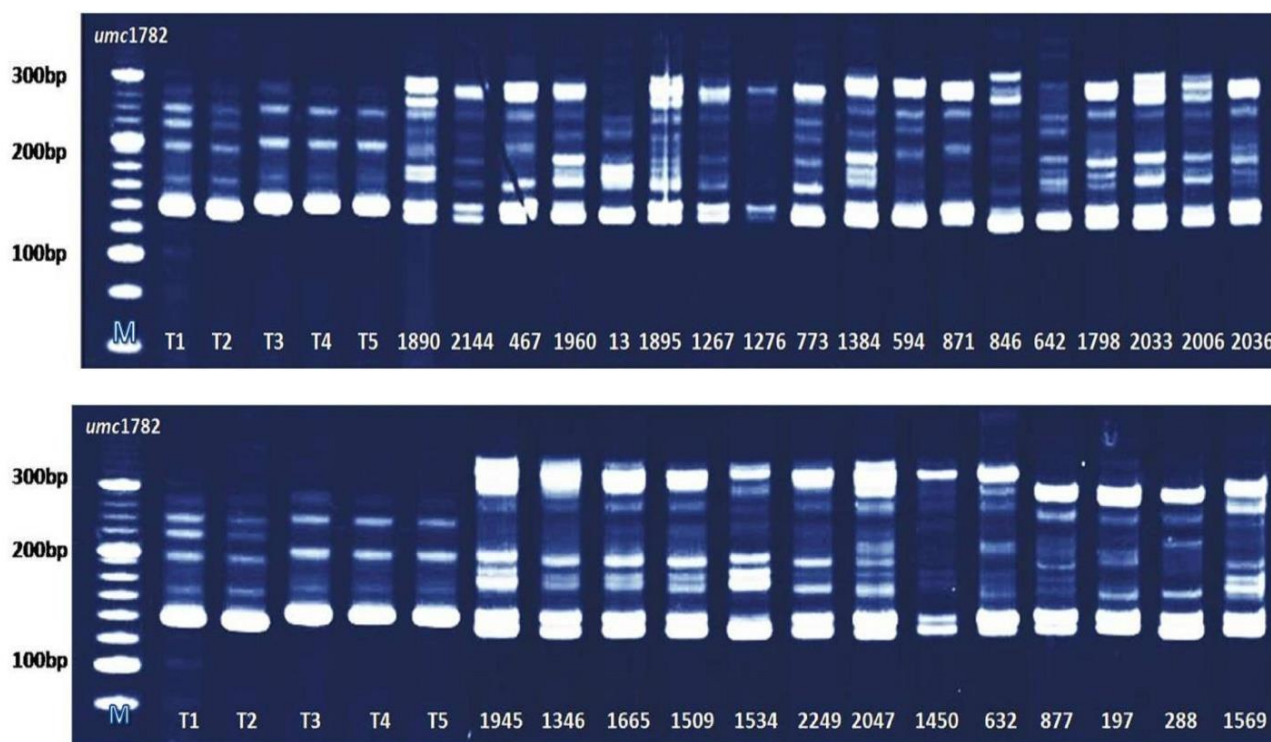
Ispitivanje genetičkog diverziteta populacija kukuruza urađeno je na međupopulacionom nivou 31 ispitivane populacije, kao i u odnosu na testere. Od korišćenih 33 SSR prajmera, 29 prajmera dalo je jasnu sliku, te su oni uzeti za dalju analizu genetičke divergentnosti svih analiziranih genotipova. Četiri prajmera je izbačeno iz dalje analize usled monomorfnosti (*umc1333*) odnosno poteškoća u optimizaciji PCR amplifikacije i nejasnih DNK profila (*bnlg197*, *phi032*, i *phi093*). Procenat polimorfnih markera korišćenih u ovom istraživanju bio je visok (96,7%).

Tabela 51. Naziv prajmera, broj alela i veličina alela

Redni broj	Prajmer	Broj alela	Relativna veličina alela (bp)
1.	umc1282	3	140-180
2.	bnlg1083	5	170-220
3.	umc1013	5	125-160
4.	umc1122	5	150-280
5.	umc2047	5	125-160
6.	umc1265	3	110-120
7.	umc1736	5	140-200
8.	umc1839	4	185-195
9.	bnlg1784	4	210-225
10.	umc1418	5	130-200
11.	umc1109	4	110-220
12.	phi087	7	140-180
13.	umc1153	6	105-160
14.	phi075	3	205-220
15.	umc1006	4	105-120
16.	umc1257	4	175-185
17.	phi452693	5	130-230
18.	umc1324	6	145-205
19.	umc1456	6	165-190
20.	umc1782	4	130-145
21.	umc1799	6	100-180
22.	bnlg1782	5	220-270
23.	phi080	7	150-340
24.	umc1040	6	75-120
25.	umc1492	4	130-165
26.	umc1310	3	125-150
27.	umc1152	6	160-190
28.	umc1506	4	110-130
29.	umc1827	5	120-130

Ukupan broj detektovanih alela sa 29 SSR prajmera iznosio je 139, dok je prosečna vrednost alela iznosila 4,8. Broj alela po lokusu kretao se od tri za prajmere *umc1265*, *umc1282*, *phi075* i *umc1310*, do sedam za prajmere *phi080* i *phi087* (Tabela 51).

Elektroforegram za SSR prajmer *umc1782* prikazan je na Slici 18.



Slika 18. DNK profil pet testera i 31 populacije za SSR prajmer *umc1782*; M-20bp marker

Radi utvrđivanja genetičke varijabilnosti između proučavanih populacija, kao i između populacija i testera izračunati su koeficijenti genetičkih distanci. Vrednosti parametara genetičkih distanci između proučavanih genotipova prikazani su u Tabelama 52 i 53.

Tabela 52. Genetičke distance po Nei-u za testere (inbred linije) kukuruza

Tester	L217	L73B013	L255/75-5	F2	Polj17
L217	0				
L73B013	0,43	0			
L255/75-5	1,54	1,43	0		
F2	1,34	0,87	0,64	0	
Polj17	1,28	1,22	0,57	0,74	0

Vrednosti dobijenih genetičkih distanci testera (Tabela 52) su se kretale od 0,43 do 1,54, dok je prosečna vrednost iznosila 1,01. Na osnovu vrednosti genetičke distance po Nei-u može se zaključiti da su najudaljeniji genotipovi sa najvećom distancom L217 (*IowaDent*) i L255/75-5 (*Lancaster*). Najmanja zabeležena distanca testera bila je između genotipova L217 (*IowaDent*) i L73B013 (*IowaDent* × *BSSS*) koji u manjem procentu dele zajedničku germplazmu (12,5%). Može se zaključiti da su dobijeni rezultati genetičke distance u saglasnosti sa pedigreom korišćenih testera.

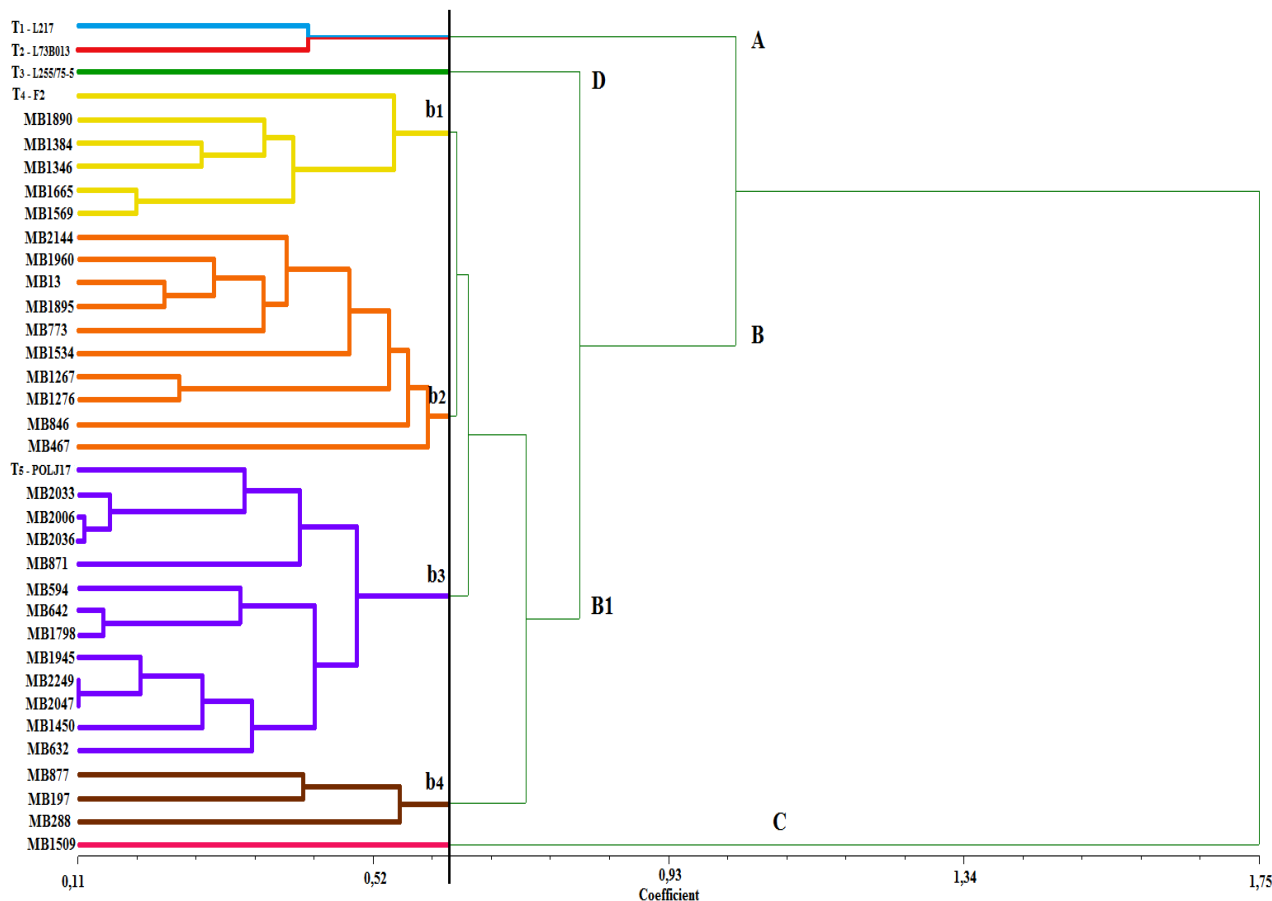
Dobijene vrednosti genetičkih distanci lokalnih populacija kukuruza (Tabela 53) su se kretale od 0,11 (najmanja distanca između MB2047 i MB2249) do 1,97 (najveća distanca između MB1509 i MB1267). Prosečna distanca svih lokalnih populacija iznosila je 0,66.

Tabela 53. Genetičke distance po Nei-u za lokalne populacije kukuruza

	MB1890	MB2144	MB467	MB1960	MB13	MB1895	MB1267	MB1276	MB773	MB1384	MB594	MB871	MB846	MB642	MB1798	MB2033	MB2006	MB2036	MB1945	MB1346	MB1665	MB1509	MB1534	MB2249	MB2047	MB1450	MB632	MB877	MB197	MB288	MB1569
MB1890	0																														
MB2144	0,51	0																													
MB467	0,41	0,53	0																												
MB1960	0,61	0,44	0,65	0																											
MB13	0,59	0,50	0,46	0,31	0																										
MB1895	0,52	0,28	0,47	0,28	0,23	0																									
MB1267	0,67	0,80	0,61	0,34	0,40	0,44	0																								
MB1276	0,57	0,69	0,54	0,33	0,52	0,49	0,25	0																							
MB773	0,46	0,37	0,49	0,37	0,44	0,29	0,68	0,37	0																						
MB1384	0,36	0,42	0,47	0,55	0,70	0,59	0,53	0,43	0,46	0																					
MB594	0,78	0,58	0,95	0,43	0,61	0,53	0,69	0,68	0,42	0,42	0																				
MB871	0,61	0,69	0,74	0,62	0,60	0,74	0,59	0,54	0,78	0,44	0,69	0																			
MB846	0,59	0,58	0,81	0,54	0,75	0,58	0,55	0,56	0,42	0,42	0,51	0,71	0																		
MB642	0,77	0,64	0,99	0,66	0,89	0,80	0,87	0,69	0,48	0,41	0,25	0,55	0,61	0																	
MB1798	0,58	0,57	0,78	0,78	0,97	0,81	0,73	0,63	0,62	0,27	0,42	0,35	0,57	0,14	0																
MB2033	0,86	0,71	0,90	0,48	0,56	0,51	0,50	0,68	0,69	0,68	0,46	0,51	0,70	0,39	0,29	0															
MB2006	1,00	0,74	0,97	0,43	0,60	0,57	0,50	0,51	0,79	0,67	0,55	0,38	0,71	0,45	0,31	0,14	0														
MB2036	0,91	0,68	0,95	0,41	0,61	0,53	0,57	0,45	0,68	0,68	0,55	0,39	0,83	0,43	0,33	0,16	0,12	0													
MB1945	0,45	0,42	0,61	0,41	0,52	0,53	0,56	0,45	0,51	0,55	0,60	0,34	0,83	0,41	0,37	0,48	0,41	0,39	0												
MB1346	0,38	0,36	0,58	0,45	0,59	0,57	0,66	0,56	0,55	0,28	0,55	0,54	0,54	0,54	0,45	0,78	0,76	0,69	0,34	0											
MB1665	0,43	0,53	0,83	0,70	0,88	0,90	1,02	0,89	0,87	0,40	0,85	0,51	0,81	0,66	0,42	0,86	0,81	0,74	0,42	0,23	0										
MB1509	1,67	1,57	1,64	1,65	1,73	1,82	1,97	1,64	1,75	1,62	1,80	1,73	1,82	1,82	1,72	1,94	1,96	1,69	1,63	1,38	1,54	0									
MB1534	0,63	0,52	0,77	0,56	0,35	0,52	0,69	0,74	0,46	0,66	0,47	0,70	0,53	0,66	0,75	0,90	0,97	1,00	0,55	0,39	0,64	1,58	0								
MB2249	0,46	0,35	0,74	0,51	0,72	0,53	0,84	0,67	0,40	0,47	0,48	0,48	0,69	0,27	0,27	0,53	0,64	0,53	0,19	0,31	0,40	1,32	0,50	0							
MB2047	0,61	0,30	0,84	0,46	0,71	0,47	0,74	0,64	0,55	0,51	0,56	0,41	0,75	0,37	0,29	0,56	0,52	0,41	0,20	0,35	0,41	1,44	0,60	0,11	0						
MB1450	0,62	0,54	0,86	0,57	1,01	0,86	0,83	0,54	0,65	0,52	0,73	0,51	0,63	0,44	0,33	0,78	0,64	0,62	0,31	0,41	0,34	1,66	0,77	0,27	0,26	0					
MB632	0,64	0,51	0,66	0,51	0,50	0,48	0,69	0,64	0,59	0,65	0,59	0,40	0,97	0,46	0,40	0,44	0,34	0,34	0,22	0,48	0,63	1,85	0,72	0,38	0,26	0,53	0				
MB877	0,73	0,81	0,65	0,68	0,93	0,86	0,84	0,50	0,59	0,64	0,99	0,69	0,67	0,84	0,67	1,14	0,83	0,81	0,47	0,44	0,47	1,77	0,71	0,51	0,55	0,42	0,61	0			
MB197	1,08	0,94	1,20	0,70	0,84	0,89	0,86	0,76	0,94	0,84	0,97	0,69	0,71	0,91	0,68	0,70	0,58	0,64	0,76	0,53	0,47	1,76	0,76	0,77	0,85	0,67	0,97	0,42	0		
MB288	0,90	0,79	0,71	0,43	0,38	0,54	0,55	0,69	0,79	0,92	0,81	0,62	0,78	0,94	0,89	0,60	0,56	0,69	0,54	0,64	0,63	1,84	0,86	0,79	0,71	0,68	0,60	0,57	0,53	0	
MB1569	0,46	0,51	0,70	0,59	0,71	0,74	0,85	0,55	0,50	0,51	0,78	0,48	0,73	0,62	0,48	0,92	0,81	0,75	0,35	0,38	0,19	1,64	0,63	0,45	0,46	0,29	0,56	0,36	0,49	0,42	0

6.4. Rezultati klaster analize

Radi lakšeg sagledavanja srodnosti pet testera (inbred linija) i 31 lokalne populacije kukuruza na osnovu matrica genetičkih distanci po *Nei*-u, urađena je klaster analiza *UPGMA* (*unweighted pair-group mean arithmetic method*) metodom grupisanja. Rezultati analize predstavljeni u formi dendrograma prikazani su na Grafikonu 58.



Grafikon 58. Dendrogram klaster analize lokalnih populacija kukuruza i testera (inbred linija)

Na osnovu dobijenog dendrograma klaster analize može se zaključiti sledeće: kompletan dendrogram čine dva klastera (klaster A i klaster B) i grana C (populacija MB1509). Klaster A formiraju testeri L217 i L73B013, što je u skladu sa njihovim pedigreom. Klaster B se dalje može podeliti na granu D (koju čini linija L255/75-5 *Lancaster* osnove) i subklaster B1 koga čine lokalne populacije kukuruza i dve rane inbred linije T₄ (F2) i T₅ (Polj17).

Može se primetiti da su se elitne linije T₁ (L217), T₂ (L73B013) i T₃ (L255/75-5) jasno i očekivano izdvojile u odnosu na lokalne populacije, ali i međusobno, u skladu sa poznatim informacijama o njihovom pedigreu (Linija L217 pripada heterotičnoj osnovi *Iowa Dent*, L73B013 pripada heterotičnoj osnovi *Iowa Dent* – BSSS, dok L255/75-5 pripada *Lancaster* heterotičnoj osnovi). Lokalne populacije Zapadnog Balkana su jasno grupisane u manje podklaster (b₁, b₂, b₃ i b₄) prema dobijenim distancama. Različiti podklasteri su označeni različitim bojama.

Inbred linija F2 (tester T₄) dobijena je iz sorte *Lacaune* (Messmer et al., 1992), koja pripada ranim evropskim populacijama tvrdunaca. Na osnovu genetičkih distanci linija F2 (tester T₄) se grupisala u isti podklaster (b₁ - žuto) sa lokalnim populacijama MB1890, MB1384, MB1346, MB1665, MB1569. Međutim, iako su genetički srodne, odlikuju ih različite fenotipske osobine.

U okviru istog subklastera B1 posebnu grupu (b₂ - narandžasto) čine vrlo ranostasne populacije tvrdunaca, sa biljkom niskog habitusa i nisko pozicioniranim klipom (MB2144,

MB1960, MB13, MB1895, MB773, MB1534, MB1267, MB1276, MB846 i MB467). Najveću sličnost (najmanju genetičku distancu) ispoljile su populacije MB13 i MB1895, kao i populacije MB1267 i MB1276. Posmatrajući dendrogram označen narandžastom bojom uočava se velika sličnost između ovih populacija. Populacijama MB13 i MB1895 sukcesivno se pridružuju ostale populacije povećavanjem distance u odnosu na njih.

Inbred linija Polj 17 (tester T₅) predstavlja ranu liniju zubana koja pripada grupi zrenja FAO 150. Autor ove linije je dipl. inž. Miladin Vuković. Nastala je pedigre selekcijom iz linije S61, započetom u Smonicama (Poljska), čiji je rad dovršen u Zemun Polju. Na osnovu informacija iz prakse, Polj 17 ispoljava dobru posebnu kombinacionu sposobnost u ukrštanjima sa linijom tvrduca F2, dajući dobar rani trolinijski hibrid ZP 196, (♀Polj 17 × ♂K1) × ♂F2.

Podklaster b₃ - ljubičasta boja, čine tri manje grupe populacija. Prvu grupu čine populacije MB2033, MB2006, MB2036 i MB871, koje su najbliže vezane za liniju Polj17. Drugu grupu čine populacije MB594, MB642 i MB1798. Treću grupu čine populacije MB1945, MB2249, MB2047, MB1450 i MB632.

Lokalne populacije MB877, MB197 i MB288 čine podklaster b₄ označen braon bojom i kao grupa se pridružuju kompletnom klasteru ostalih lokalnih populacija. Ovo su populacije poluzubana (MB877) i zubana (MB197, MB288), kod kojih se može uočiti zašiljenost vrha zrna koja je tipična za zubane Južne Amerike.

Na samom kraju celokupnom klasteru pridružuje se grana C, populacija MB1509. Njena velika distanca u odnosu na ostali ispitivani materijal ukazuje da joj nijedna od ispitivanih domaćih populacija kukuruza genetički nije slična. Takođe ne ispoljava genetičku sličnost ni sa jednim ispitivanim testerom.

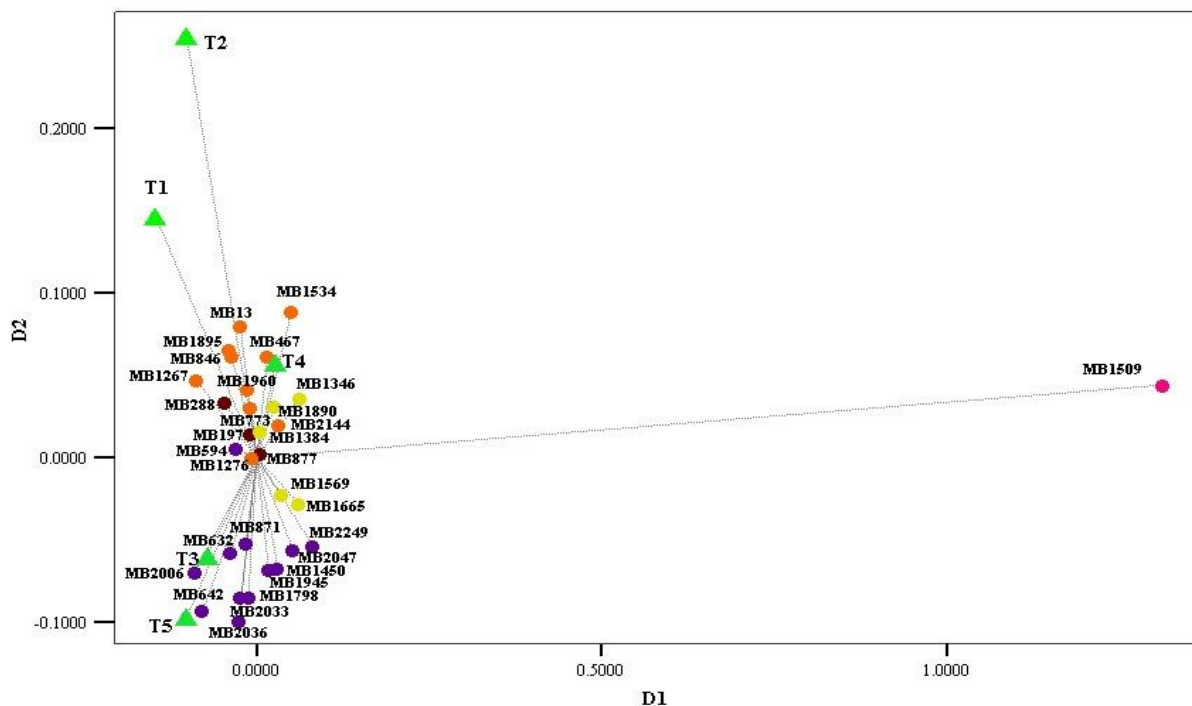
6.5. Rezultati korespondentne analize

Korespondentna analiza je urađena u programu *SPSS 15.0. Version*, a na osnovu matrice genetičkih distanci po Nei-u. Korespondentnom analizom se na potpuniji način može sagledati genetička sličnost ispitivanih genotipova lokalnih populacija i tester linija, te pretpostaviti najbolji mogući heterotični par. Iako su rezultati korespondentne analize u saglasnosti sa rezultatima klaster analize, njena prednost je što se rezultati mogu predstaviti na grafikonima, gde se na jasan način predočava kontinuirana genetička varijabilnost ispitivanih lokalnih populacija i testera.

Prve tri dimenzije korespondentne analize (D₁, D₂, D₃) obuhvataju 49,1%, 13,9% i 11,7% genetičke varijabilnosti, respektivno. Rezultati su predstavljeni na 2D i 3D grafikonima.

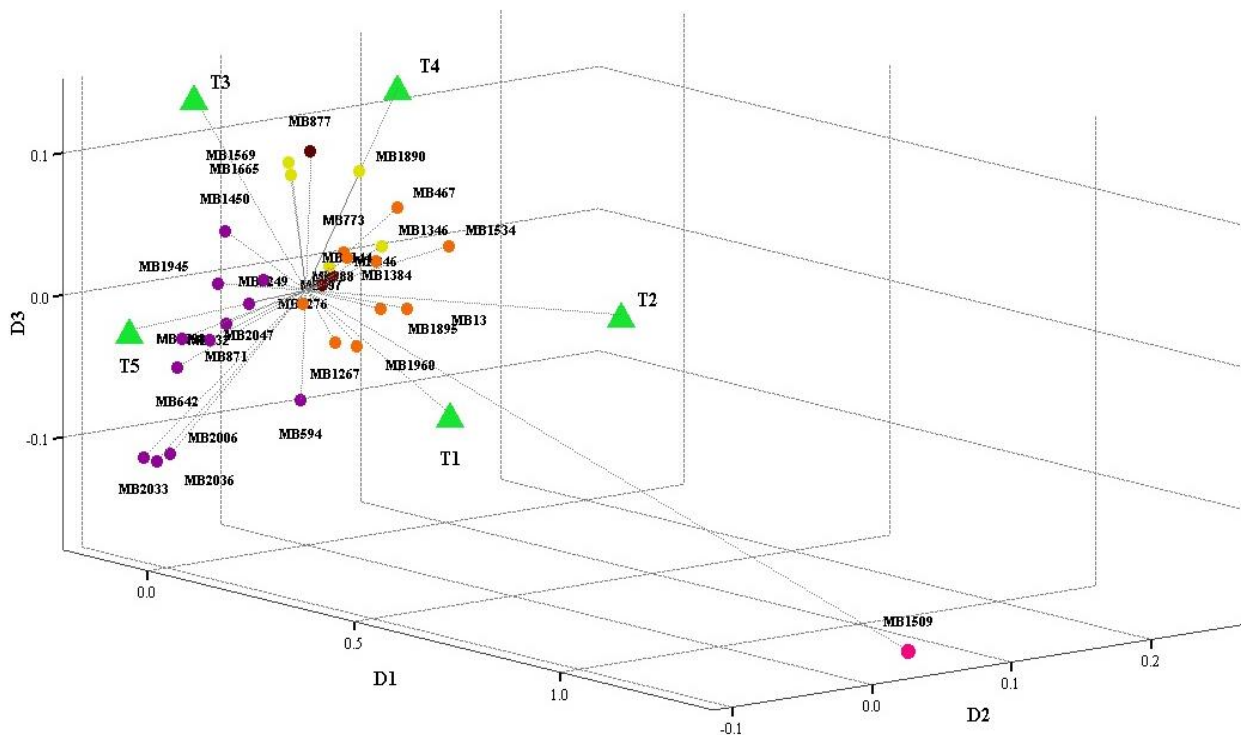
Na 2D grafikonu korespondentne analize genetičkih sličnosti može se uočiti da lokalne populacije generalno imaju kraće vektore u poređenju sa testerima, što ukazuje na njihovu veću genetičku sličnost. Na istom grafikonu uočava se da neke populacije imaju sličan smer vektora, kao i neki testeri, što ukazuje da mogu imati istu heterotičnu pripadnost, čime je moguće praktično korišćenje te informacije u hibridnim kao i predoplemenjivačkim programima (Grafikon 59).

Sa pozitivnim vrednostima prve dimenzije jasno se izdvajaju populacije podklastera b₁, (MB1890, MB1384, MB1346, MB1665, MB1569), označene žutom bojom, od ostalih populacija. Druga dimenzija (negativne vrednosti) jasno odvajaju populacije podklastera b₃ (MB2033, MB2006, MB2036, MB871, MB594, MB642, MB1798, MB1945, MB2249, MB2047, MB1450 i MB632) označene ljubičastom bojom, od populacija podklastera b₂ i b₄ koje su označene narandžastom (MB2144, MB1960, MB13, MB1895, MB773, MB1534, MB1267, MB1276, MB846 i MB467) i braon (MB877, MB197 i MB288) bojom. Takođe se vidi da testeri opozitnih heterotičnih grupa zauzimaju opozitna mesta na grafikonu (T₁ i T₂ - *Iowadent* i *BSS-Iowadent* nasuprot T₃ - *Lancaster*; T₄ - *F2* nasuprot T₅ - *Polj 17*).



Grafikon 59. 2D dijagram korespodentne analize genetičkih sličnosti lokalnih populacija kukuruza

Na 3D grafikonu prikazane su prve tri ose korespodentne analize. Na ovom grafikonu se još jasnije uočava da testerovi imaju najduže vektore što ukazuje na njihovu veliku genetičku divergentnost. Takođe se još jasnije vidi da testerovi koji pripadaju opozitnim heterotičnim grupama zauzimaju i opozitna mesta u prostoru grafikona korespodentne analize (Grafikon 60). Jasno se izdvajaju pripadnici određenih klastera (označeni različitim markerima).



Grafikon 60. 3D dijagram korespodentne analize genetičkih sličnosti 31 lokalne populacije i testera

Većina populacija ima znatno kraće vektore od linija testera. Pojedine populacije nalaze se bliže koordinatnom početku, što govori o širini njihove unutarpopulacijske genetičke osnove. Jasno izdvajanje lokalne populacije MB1509 ukazuje da je genetički najudaljenija od ostalih lokalnih populacija, ali i od korišćenih testera poznatog pedigrea. Ovakav rezultat ukazuje da je ova populacija nešto novo, i da joj treba posvetiti posebnu pažnju kako bi se detaljnije spoznao njen heterotični obrazac i mogućnosti introgresije u postojeće oplemenjivačke programe. Neke populacije ispoljavaju veliku međusobnu genetičku sličnost, kao što su na primer populacije MB1569 i MB1665. Pored njih, populacije MB2006, MB2036 i MB2033 pokazuju veliku divergentnost u odnosu na ostale ispitivane populacije, pa takođe zavređuju posebnu pažnju.

VII

DISKUSIJA REZULTATA

Konstantna težnja ka stvaranju sorti sa sve većim potencijalom rodnosti (prinosom zrna) dovela je do drastičnog smanjenja genetičkog diverziteta kod gotovo svih agronomski važnih biljnih vrsta, pa tako i kod kukuruza. Gubitak agrobiodiverziteta je predmet ozbiljne zabrinutosti, a napori koji se čine u tom pravcu nedvosmisleno pokazuju da u svetu postoji čvrsta rešenost da se iznađu jasni i efikasni mehanizmi očuvanja i održivog korišćenja genetičke raznovrsnosti (Prodanović i Šurlan-Momirović, 2006). Brojna istraživanja naglašavaju značaj sačuvanih uzoraka u bankama gena sa aspekta konzervacije osobina od značaja, kako za prevazilaženje različitih vrsta biotičkog i abiotičkog stresa, tako i kao izvora poželjnih tehnološko-nutritivnih svojstava (Vančetočić et al., 2010). Sa druge strane, veliki broj čuvanih (održavanih) uzoraka i opterećenost uzoraka nepoželjnim svojstvima čini brojne kolekcije gotovo neupotrebljivim, kako sa aspekta ekonomske opravdanosti karakterizacije i evaluacije, tako i sa aspekta dobijanja relevantnih rezultata u oplemenjivanju u razumnom vremenskom periodu (Popović et al., 2020). Dodatno, kompeticija između različitih institucija dovodi do toga da se u jednoj proizvodnoj godini izbaci na tržište mali broj prvorangiranih hibrida kukuruza, uglavnom nastalih iz elitnog materijala uske genetičke osnove. Još davne 1975. godine Zuber navodi da se oko 40% proizvodnje komercijalnog semena kukuruza u Americi bazira na šest samooplodnih linija dobijenih iz iste osnovne germplazme. Zato je potrebno otkrivanje i unošenje novog genetičkog materijala u dugo korišćene i malobrojne heterotične grupe kod kukuruza, kako bi se osigurao dalji napredak u selekciji. Poželjni aleli, vezani za različite osobine, nalaze se unutar širokog spektra lokalnih populacija, a mogućnost proširenja genetičke osnove zavisi od identifikacije i inkorporacije novih alela. Međutim, oplemenjivači kukuruza nerado koriste takav genetički materijal zbog opterećenosti negativnim osobinama i neprilagođenosti savremenoj agrotehnici u odnosu na elitni materijal. Messmer et al. (1992) navode da se velika raznovrsnost nalazi unutar evropskih lokalnih populacija kukuruza, ali mali broj njih je korišćen za stvaranje inbred linija heterotične grupe tvrdunaca koje su potom korišćene u stvaranju hibrida.

Predoplemenjivanje predstavlja efikasan sistem korišćenja najšire genetičke varijabilnosti, u okvirima predoplemenjivačkih programa, koji predstavljaju „selektor” poželjnih gena/genotipova za inkorporaciju u elitni materijal oplemenjivača. Lokalne populacije sadrže široku genetičku varijabilnost koja je nastala u dugom vremenu prilagođavanja, adaptacije na lokalne agroklimatske uslove i uslove gajenja (Nas i Paterniani, 2000). Stoga su lokalne populacije koje se čuvaju u bankama biljnih gena, dobra osnova za poboljšanje kvaliteta oplemenjivačkih kolekcija, a time i novih sorti/hibrida koje se nude tržištu. Međutim, lokalne populacije se ne mogu koristiti direktno kao roditeljske komponente u hibridnoj proizvodnji. Dugoročni programi poboljšanja populacija su od suštinskog značaja za iskorišćavanje njihovog oplemenjivačkog potencijala. Ogroman broj uzoraka koji se čuvaju u bankama gena često predstavlja otežavajući faktor za efikasnije korišćenje raspoložive genetske varijabilnosti. Stoga je klasifikacija lokalnih populacija Zapadnog Balkana u različite homogene grupe izvršena pre odabira materijala za ovu doktorsku disertaciju, u cilju odabira manjeg broja uzoraka za dalji rad, zadržavajući što je moguće veću genetičku varijabilnost početnog gen-pula (Babić i dr., 2015). Mayer et al., (2017) navode da bi detaljna klasifikacija uzoraka u slične i srodne grupe trebalo da se izvrši pre odabira jezgrovne/sržne podgrupe, jer je značajan obim diverziteta vrste često raspoređen između i unutar grupa, posebno kod stranooplodnih vrsta kakva je i kukuruz. Međutim, karakterizacija lokalnih populacija prema CIMMIT/IBPGR deskriptorima za kukuruz (IBPGR, 1991), koja je korišćena za klasifikaciju populacija koja je prethodila odabiru manjeg broja populacija za ispitivanje njihovog heterotičnog potencijala u okviru ove disertacije, ne sadrži važne podatke sa stanovišta oplemenjivanja, kao što su prinos zrna, osobine stabljike i heterotični obrazac/potencijal. Osnovna saznanja o genetičkom potencijalu osnovne/polazne populacije su važna, bilo da se odnose na karakteristike populacija *per se* ili na ponašanje populacija u ukrštanjima, kako bi se one mogle uspešno koristiti u programima

oplemenjivanja za stvaranje i unapređenje novih sorti (Böhm et al., 2017). Za potrebe ovih istraživanja konačni odabir lokalnih populacija, za procenu njihovih kombinacionih sposobnosti i heterotičnog obrasca/modela, izvršen je proporcionalno, tj. 10 – 15% iz svake prethodno definisane homogene grupe, a bio je zasnovan na ekspresiji što većeg broja poželjnih osobina populacija *per se* (Popović et al., 2020). Pretpostavlja se da je na ovaj način odabranim populacijama obuhvaćen najveći deo varijabilnosti, sadržan u početnom gen-pulu od 310 lokalnih populacija Zapadnog Balkana (povećane tolerantnosti na sušu), a istovremeno su odabrane populacije najboljih osobina od značaja za oplemenjivače (visok prinos, mali procenat poleganja, dobra ocena biljke i klipa).

Saznanja o lokalnim populacijama Zapadnog Balkana do kojih se došlo u prethodnom periodu, kao što su: identifikacija genotipova tolerantnih na sušu (Kravić, 2013), pripadnost lokalnih populacija Zapadnog Balkana odgovarajućim homogenim grupama (Babić et al., 2012; 2015), identifikacija populacija nosioca osobina značajnih za oplemenjivanje (Popović, 2013; 2020), predstavljala su dobru polaznu osnovu za odabir populacija čije su oplemenjivačke vrednosti i heterotični potencijal bili testirani, a rezultati predstavljeni u ovoj doktorskoj disertaciji.

Böhm et al. (2017) su naveli da su informacije o osobinama populacija *per se*, kao i informacije o njihovom heterotičnom potencijalu, važne kako bi se pravilno i na najefikasniji način upotrebila genetička raznolikost lokalnih populacija kukuruza. Iz tog razloga, mnoga su se istraživanja fokusirala na heterotično grupisanje lokalnih populacija i identifikaciju perspektivnih heterotičnih parova među njima (Brauner et al., 2019; Revilla et al., 2006). Vančetović et al. (2015 b) naglašavaju da vrednost početne populacije za oplemenjivanje, kada je F1 hibrid glavni cilj, pored osobina populacije *per se*, zavisi i od njenih kombinacionih sposobnosti u ukrštanjima sa drugom populacijom, grupom populacija ili samooplodnih linija.

Posebna pažnja u okviru ove disertacije posvećena je odabiru testera. Sinhronizacija cvetanja između muških i ženskih roditelja hibrida kukuruza važan je parametar za postizanje bolje ozrjenosti i prinosa zrna u procesu ukrštanja (Worku et al., 2016). Kako bi se ocenio datum cvetanja u istim uslovima spoljašnje sredine, posejano je pet komercijalnih testera. Tri najbolja divergentna inbred testera koja su pripadala FAO 300–400 grupama zrenja (srednje rana) izabrana su za planirana testiranja/ukrštanja. Vodilo se računa da su testeri predstavnici tri najvažnije heterotične grupe (*Lancaster*, *BSSS*, *Iova Dent*), najzastupljenije u oplemenjivačkom programu Instituta za kukuruz „Zemun Polje”. Većina hibridnih oplemenjivačkih programa kukuruza umerenog pojasa upotrebljava *Stiff Stalk* i *non-Stiff Stalk* heterotični obrazac unutar rase *Corn Belt Dent*, koja je već prošla kroz brojne cikluse selekcije, pre svega za unapređenje prinosa zrna (Bertoia et al., 2006). Böhm et al. (2015) preporučuju da se procena oplemenjivačkog potencijala lokalnih populacija, u cilju proširenja genetičke osnove postojećih heterotičnih grupa, radi na osnovu ispitivanja njihovih performansi u *test cross* – ukrštanjima sa jednim ili dva elitna *single cross* testera suprotne heterotične osnove.

Aktuelnost i značaj ovih istraživanja, potkrepljuju brojna istraživanja na lokalnim populacijama koja su rađena širom sveta, kao što su: ispitivanja lokalnih francuskih populacija (Gouesnard et al., 1997), italijanskih lokalnih populacija (Brandolini, 2009), meksičkih lokalnih populacija (Loute i Smalle, 2000; Pressoir i Berthaud, 2004), evropskih populacija (Rebourg et al., 2001), turskih populacija (Ilarslan et al., 2002), kineskih populacija (Li et al., 2002a; Wei et al., 2009), indijskih populacija (Singode et al., 2009; Prsanna, 2010; Wasala et al., 2013; Kumar et al., 2015), populacija Obale Slonovače (Hugues et al., 2015), lokalnih populacija arhipelaga Madeira (Angelo et al., 2008) i mnoga druga.

7.1. Analiza kvantitativnih osobina

Metodom analize varijanse *ANOVA* (*Analysis of Variance*), koja kombinuje lokacije i godine (tj. sedam spoljašnjih sredina) utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u ispitivanim osobinama među analiziranim genotipovima. Spoljašnje sredine i interakcija genotipa i spoljašnje sredine uzeti su kao random efekti, dok su efekti testera (oca) i populacije (majke) uzeti kao fiksni efekti.

U ovom istraživanju, rezultati ispitivanja u više različitih spoljašnjih sredina prikazuju da su efekti lokalnih populacija, inbred testera, kao i njihove interakcije (osim trostruke interakcije spoljašnja sredina \times tester \times lokalna populacija) bili značajni za osobinu prinos zrna i gotovo sve ostale posmatrane osobine. Ovo ukazuje da su velike unutarhibridne razlike između *test-cross* hibrida za određene lokalne populacije rezultirale sličnim odgovorom kroz lokacije, a da su svi ostali izvori varijacija bili statistički značajni za sve posmatrane osobine (sa par izuzetaka). Sumarni pregled značajnosti pojedinih izvora varijacije, kao i koeficijenti varijacije dati su u Tabeli 54. Slične rezultate dobili su Beyene et al. (2005) koji su ispitivali 15 morfoloških osobina na 62 lokalne populacije kukuruza.

Tabela 54. Sumarni pregled nivoa značajnosti za sredine kvadrata i koeficijenti varijacije analiziranih osobina *test cross* hibrida kukuruza

Izvor varijacije	Osobine													
	Vb	Vk	Vk/Vb	Dl	Šl	Bl	Dk	Pk	Po	Dz	Br	Bz	Ms	Pr
Spoljašnja sredina	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Ponavljanje (spoljašnja sredina)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	NZ	**	*
Efekat faktora A (otac)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Spoljašnja sredina \times faktora A	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	NZ	**
Efekat faktora B (majka)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Spoljašnja sredina \times faktora B	**	**	**	**	NZ	**	**	**	**	**	**	**	**	NZ
Efekat faktora AB	**	**	**	**	NZ	**	**	**	**	**	**	**	**	**
Spoljašnja sredina \times efekata faktora AB	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	*	NZ	NZ	NZ	NZ	NZ	**	**
CV (%)	4,76	8,87	3,88	4,11	6,83	6,00	5,85	3,44	4,22	5,61	5,67	7,68	6,75	16,68

* - statistički značajno na nivou 0,05; ** - statistički značajno na nivou 0,01; NZ - nije statistički značajno

Legenda: Vb - visina biljke, Vk - visina klipa, Vk/Vb - odnos visine biljke i visine klipa, Dl - dužina lista, Šl - širina lista, Bl - broj listova iznad klipa, Dk - dužina klipa, Pk - prečnik klipa, Po - prečnik oklaska, Dz - dubina zrna, Br - broj redova zrna, Bz - broj zrna u redu, Ms - masa 1000 semena, Pr - prinos zrna

Stabilnost genotipa je od velikog značaja u oplemenjivanju kukuruza (Lee et al., 2003; Malosetti et al., 2013). Različiti agroklimatski uslovi variraju kako između lokaliteta, tako i po godinama, pa je neophodno bilo izvršiti ispitivanje *test cross* hibrida kako u različitim spoljašnjim sredinama, tako i u različitim godinama. To je učinjeno postavljanjem ogleda na više lokacija (Zemun Polje, Pančevo, Sremska Mitrovica i Bečej), različitih godina (2015. i 2016. godine) i u dva ponavljanja, kako bi se utvrdile njihove interakcije. Trethowan et al. (2001), ističu da je ispitivanje odnosa prinosa i godine (spoljašnje sredine) važno za odabir germplazme. Prema Yue et al. (1997), samo efekti koji su ispoljeni zajedničkim delovanjem genotipa (G) i uslova spoljašnje sredine (E) su predstavljeni neaditivnom varijansom, čime je istaknut značaj uticaja agroekoloških uslova na razlike u prinosu. Značajan broj autora navodi da neaditivni geni imaju veću ulogu u nasleđivanju prinosa zrna kukuruza u odnosu na aditivne gene (Shams et al., 2010; Abuali et al., 2012; Meseka i Ishaq, 2012).

Koeficijent varijacije predstavlja relativnu meru varijabiliteta, te pokazuje procentualnu varijaciju jedinica posmatranja (Hadživuković, 1991; Stanković et al., 1989). Koeficijenti varijacije (CV) dobijeni u ovim istraživanjima uglavnom su imali male vrednosti u rasponu od 5 do 10% za

osobine visina klipa, širina lista, broj listova iznad klipa, dužina lista, dubina zrna, broj redova zrna, broj zrna u redu i masa 1000 semena (8,87%, 6,83%, 6,00%, 5,85%, 5,61%, 5,67%, 7,68%, 6,75%, respektivno), sa izuzetkom prinosa zrna čiji je koeficijent varijacije iznosio 16,68%. Mali koeficijenti varijacije ukazuju nam na malu unutargrupnu varijabilnost *test cross* hibrida za neku od ispitivanih kvantitativnih osobina. Vrednosti koeficijenta varijacije za osobine visina biljke, dužina lista, prečnik klipa i prečnik oklaska (4,76%, 4,11%, 3,44%, i 4,22% respektivno) javljale su se neznatno ispod 5%. Međutim, postojanje granice dozvoljenih varijacija u poljoprivrednim naukama nije posebno ispitano niti jasno definisano, iako postoje prirodne granične vrednosti određenih osobina u biološkim sistemima (Horvat i Ivezić, 2005; Dragović, 2008). Mičić i Bosančić (2012) navode da relevantna literatura u kojoj se analiziraju koeficijenti varijacije u biološkim, odnosno, poljoprivrednim istraživanjima, pokazuje da se naučna rasprava o ovom pitanju kreće u uskom krugu, sa prihvatljivim koeficijentima varijacija od 10 do 20%, te da se u određenim slučajevima tolerišu varijacije od 5 – 10%, ili od 20 – 30%, i samo u izuzetnim slučajevima varijacije do 40%. Altoveros (2011) navodi da koeficijenti varijacije za kukuruza ne bi smeli da prelaze preko 15%. Arnhold i Milani (2011) su analizirali koeficijente varijacija iz 30 objavljenih naučnih radova o kukuruza, te došli do zaključka da se koeficijenti ispod 5,95% smatraju niskim, od 5,95% do 15,21% srednjim, od 15,21% do 20,34% visokim, a preko 20,34% veoma visokim. Generalno prihvaćen stav istraživača koji se bave problematikom prinosa kukuruza je da bi varijacije trebalo da se kreću između 10 – 15%. Međutim, Mičić i Bosančić (2012) smatraju da ovakav stav nije dobar, jer u drugim oblastima nije tako ujednačena struktura zemljišta ili drugih ograničavajućih faktora, te da granica treba da bude značajno viša, do 30%, ali ne i preko 40%.

Povećanje prinosa zrna predstavlja najznačajniju odrednicu i selekcionu cilj. Međutim, bez odgovarajuće konstitucije biljke, njene visine, visine klipa, dužine i širine listova (biološki prinos) i drugih osobina, nije moguće postići ni ekonomski prinos.

Dvolinijski (*single cross*) hibridi su danas široko u upotrebi, a poznavanje kombinacionih sposobnosti homozigotnih linija koje se koriste kao roditelji u hibridnim programima oplemenjivanja kukuruza omogućava njihovo pravilno ukrštanje u cilju ostvarivanja visokog heterozisa. Zato je od izuzetnog značaja da se pri upoznavanju sa novim materijalom (u ovom slučaju sa lokalnom populacijom), izvrši provera kombinacionih sposobnosti, te utvrdi njihov heterotični potencijal.

Samo dobar fenotipski izgled biljke kukuruza može izneti i ostale kvantitativne vrednosti, ali i podneti intenzivne uslove proizvodnje. Duvick (2005) i Stojaković et al. (2006) tvrde da se trendovi u oplemenjivanju kukuruza baziraju na arhitekturi biljke. Ova činjenica ističe značaj fenotipskih markera u procesu selekcije. Prema njima, savremeni hibridi moraju imati stabljike nižeg habitusa, erektilan položaj listova, klipove sa većim brojem redova, a manjim brojem zrna u redu, kao i sposobnost brzog otpuštanja vlage iz zrna. Stoga su predmet istraživanja u ovoj doktorskoj disertaciji, pored prinosa bile i druge morfološke karakteristike.

Analizirajući dobijene rezultate značajnosti razlika efekata majki (populacija) u *test cross* hibridima izdvojeni su najbolji i najlošiji opšti kombinatori za prinos zrna kao i za sve ostale ispitivane kvantitativne osobine. Međutim, za efekat majke (populacija) kod MB1895, MB1384, MB2033, MB1945, MB1534, MB2047 i MB877, ni za jednu ispitivanu osobinu nisu uočene ekstremne vrednosti ranga OKS. U Tabeli 55 sumarno su predstavljeni rezultati efekta majki (populacija) u *test cross* ukrštanjima, za sve ispitivane osobine. Naznačene su populacije koje su u ukrštanjima sa sva tri testera dale najveće vrednosti, odnosno koje su ispoljile najveću OKS.

Rezultati OKS za prinos zrna pokazali su da su se lokalne populacije zubana MB1346, MB197, MB1569, MB1509 i MB2036 generalno bolje kombinovale sa odabranim testerima. Smatra se da će se vremenom nastali jaz u prinosu zrna kukuruza između genetičkih resursa i elitnog oplemenjivačkog materijala sve više povećavati zbog napretka selekcije za ovu osobinu, i to od 1 do 2% na godišnjem nivou. Kako bi se prevazišao ovaj jaz, potrebno je pokrenuti nove ili nastaviti postojeće programe predoplemenjivanja. Ovaj proces bi se mogao ubrzati korišćenjem savremenih metodologija kao što je dobijanje linija metodom dvostrukih haploida iz lokalnih populacija, uprkos njihovim lošijim performansama u poređenju sa elitnim linijama tvrdunaca

(Wilde et al., 2010). Gouesnard et al. (2016) navode da ispitivane populacije koje potiču iz suvih južnoevropskih poljoprivrdnih područja, pokazuju osobine koje ukazuju na veću tolerantnost na sušu, te se mogu koristiti u oplemenjivanju uprkos postojećem jazu u prinosu između ovih populacija i elitnog materijala.

Malobrojna istraživanja, i to na malom broju populacija tvrdunaca, rađena su sa ciljem ispitivanja njihove heterotične pripadnosti, kombinacionih sposobnosti, kao i utvrđivanja glavnih efekata i interakcije u ukrštanjima sa testerima (Soengas et al., 2006). Zbog toga je posebno važno identifikovanje lokalne populacije polutvrdunca MB1267, kao najboljeg opšteg kombinatora. Međutim, lokalne populacije se ne mogu koristiti direktno kao roditeljske komponente u hibridnoj proizvodnji. Dugoročni programi poboljšanja populacija su od suštinskog značaja za iskorišćavanje njihovog oplemenjivačkog potencijala. S druge strane, tester(i) koji su iz suprotnih heterotičnih grupa vremenom će se verovatno menjati. Zbog toga je dodatno važno posedovati informacije o OKS populacija. Hölker et al. (2019) preporučuju upotrebu testera šire genetičke osnove, suprotnih heterotičnih grupa poput dvolinijskih (*single cross* – $A \times B$) ili čak četvorolinijskih testera (*double cross* – $(A \times B) \times (C \times D)$), što u skladu sa teorijom kvantitativne genetike vodi u smanjenju efekta posebne kombinacione sposobnosti (PKS).

Kada se posmatra sumarna tabela za OKS ispitivanih populacija (Tabela 55), uočava se da je većina populacija koja je ispoljila dobru OKS za prinos zrna ispoljila i dobru OKS i za neke druge ispitivane osobine. Pri izboru populacije za predoplemenjivanje često se posmatra više osobina istovremeno, pa ovaj pregled može biti od koristi. Na primer, ako je selekcioni cilj povećanje broja redova zrna, populacija MB13 može biti interesantna, iako je loš opšti kombinator za mnoge druge osobine. Živanović et al. (2010) smatraju da materijal sa nepoželjnim OKS treba zadržati u selekcionim programima. Takav materijal nekada stvara odlične hibride u ukrštanju sa materijalom dobre OKS suprotne heterotične osnove. Dakle, izbor željene populacije zavisi od modela sorte tj. osobina koje želi selekcioner. Mnogi istraživači ističu značaj PKS i smatraju da je to važna informacija kod inbred linija kukuruza (komponenata hibrida). Međutim, u procesu selekcije kod potencijalno budućih komponenata hibrida, neki istraživači daju veći značaj OKS (Eyhéride i Gonzáles, 1997; Castellanos et al., 1998). Prema Čamdžiji (2014), loše vrednosti OKS u procesu selekcije ne mogu dati ni dobre vrednosti PKS u kasnijim konkretnim ukrštanjima.

Takođe se može uočiti da lokalne populacije kraćeg vegetacionog perioda imaju statistički značajno niže vrednosti OKS u odnosu na populacije dužeg vegetacionog perioda, što je u skladu sa istraživanjima na ovom materijalu od strane Babić et al. (2015), u kojima je utvrđeno da su se populacije tvrdunaca najkraćeg vegetacionog perioda i najnižih biljaka klasifikovale u prvu i drugu homogenu grupu, dok su u desetoj i jedanaestoj grupi populacije zubana najdužeg vegetacionog perioda i najrobustnijih biljaka (Tabela 1).

Brojni istraživači naglašavaju značaj nisko pozicioniranog klipa za proizvodnju visokoprinosnog kukuruza u uslovima intenzivne agrotehnike (Meghji et al., 1984; Duvick et al., 2005). Populacije čiji efekat u *test cross* ukrštanjima ima niže rangirane vrednosti mogu se smatrati populacijama sa dobrim odnosom visine biljke i visine klipa (MB1960, MB1890, MB642). Pavlov et al. (2013) ističu značaj malog odnosa visine klipa i visine biljke, kao i da u nasleđivanju visine biljke i visine klipa, dominantan uticaj imaju geni sa aditivnim delovanjem. Naša istraživanja su takođe pokazala da u nasleđivanju OKS za visinu biljke i klipa presudan uticaj ima aditivno delovanje gena.

Dužina i širina listova nesumnjivo govore o fotosintetičkoj asimilacionoj površini, međutim selekcioneri i semenari takođe ističu i značaj broja listova iznad klipa, koji imaju najveću ulogu u ishrani biljke i samog klipa. Populacija zubana MB1569 se značajno ističe kao najbolji opšti kombinator za osobine dužina i širina lista, kao i broj listova iznad klipa. Takođe je dobar opšti kombinator za dužinu klipa, broj zrna u redu, što ga svrstava u populacije čiji *test cross* hibridi daju najveće prinose. Populacije MB1346, MB632, MB197 i MB1569 su ispoljile najbolju OKS za širinu lista ali i za prinos zrna. Malik et al. (2005) su primetili jaku genetičku povezanost između visine biljke, površine lista, ukazujući na to da izbor ovih karakteristika može doprineti većem prinosu zrna kukuruza, što je u saglasnosti sa našim istraživanjima.

Tabela 55. Sumarni pregled opšte kombinacione sposobnosti (OKS) za sve ispitivane osobine

Redni broj	Matični broj	Vb cm	Vk cm	Vk/Vb arcsin%	Dl cm	Šl cm	Bl broj	Dk cm	Pk cm	Po cm	Dz cm	Br broj	Bz broj	Ms g	Pr t/ha
1	1890	229,3 ^O	85,40 ^N	37,53 ^{MN}	81,48 ^{LMN}	9,163 ^{KLMNO}	5,764 ^Q	/	/	/	0,9143 ^{KLMN}	/	33,57 ^M	/	6,418 ^M
2	2144	/	/	/	/	/	5,898 ^{NO PQ}	/	/	/	/	/	/	/	/
3	467	/	/	/	80,98 ^N	8,979 ^O	/	/	3,982 ^R	2,144 ^Q	0,9193 ^{JKLMN}	/	/	/	6,738 ^{LM}
4	1960	/	87,20 ^N	36,94 ^N	81,44 ^{MN}	/	/	/	/	/	/	/	34,55 ^{KLM}	/	6,932 ^{JKLM}
5	13	/	/	/	80,51 ^N	9,095 ^{MNO}	/	16,10 ^L	/	/	0,9192 ^{JKLMN}	14,83 ^{AB}	34,06 ^{LM}	273,2 ^Q	/
6	1895														
7	1267	/	/	/	/	9,182 ^{JKLMNO}	/	/	/	/	/	/	/	/	8,361 ^A
8	1276	/	/	/	/	9,217 ^{IJKLMNO}	/	/	/	/	1,022 ^{AB}	11,92 ^M	/	383,2 ^A	/
9	773	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,9126 ^{LMN}	/	/	/	/
10	1384														
11	594	/	/	/	/	9,201 ^{JKLMNO}	5,860 ^{PQ}	/	/	2,574 ^A	0,9052 ^{MN}	/	/	/	/
12	871	/	/	/	/	/	/	/	/	/	0,8975 ^N	/	/	/	/
13	846	/	/	/	/	9,112 ^{LMNO}	5,874 ^{OPQ}	/	/	/	/	/	/	/	/
14	642	/	/	37,40 ^N	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
15	1798	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	34,55 ^{KLM}	/	/
16	2033														
17	2006	/	/	/	/	9,071 ^{NO}	/	/	/	/	0,9021 ^{MN}	/	37,80 ^{ABC}	/	6,898 ^{KLM}
18	2036	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,874 ^{ABCDE}
19	1945														
20	1346	/	/	/	/	9,915 ^{AB}	/	/	/	/	/	/	38,48 ^{AB}	/	8,256 ^{AB}
21	1665	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
22	1509	/	/	/	/	/	/	4,566 ^A	/	/	1,034 ^A	14,79 ^{AB}	/	/	7,917 ^{ABCDE}
23	1534														
24	2249	/	/	40,52 ^{AB}	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
25	2047														
26	1450	/	/	40,60 ^{AB}	/	/	/	4,535 ^{AB}	2,589 ^A	/	/	/	/	/	/
27	632	273,4 ^{AB}	116,0 ^{AB}	40,66 ^{AB}	/	10,050 ^A	/	/	/	/	/	14,69 ^{ABC}	38,97 ^A	/	/
28	877														
29	197	/	/	/	/	10,100 ^A	/	/	/	/	/	/	/	/	8,146 ^{ABC}
30	288	/	/	/	/	/	/	/	/	/	1,033 ^A	14,99 ^A	/	/	/
31	1569	276,7 ^A	119,1 ^A	41,01 ^A	89,38 ^A	10,100 ^A	6,719 ^A	20,21 ^A	/	/	/	/	38,82 ^A	/	7,949 ^{ABCD}

Legenda: Vk - visina biljke, Vb - visina klipa, Vb/Vk - odnos visine biljke i visine klipa, Dl - dužina lista, Šl - širina lista, Bl - broj listova iznad klipa, Dk - dužina klipa, Pk - prečnik klipa, Po - prečnik oklaska, Dz - dubina zrna, Br - broj redova zrna, Bz - broj zrna u redu, Ms - masa 1000 semena, Pr - prinos zrna

- visoke vrednosti OKS koje se statistički značajno ne razlikuju
 – niske vrednosti OKS koje se statistički značajno ne razlikuju

U istraživanju, najveći prinos dobijen je ukrštanjem sa testerom L73B013, koji poseduje 87,5% BSSS germplazme. Efekat prvog testera L217, *Iova Dent* heterotične osnove, nije se statistički razlikovao od efekta testera L73B013. Dobijeni, značajno niži prosečni prinos *test cross* hibrida u ukrštanjima sa linijom *Lancaster* osnove tj. testerom L255/75-5 ukazivao je na veću srodnost ispitivane lokalne germplazme sa ovom heterotičnom osnovom (Tabela 50). Ovaj rezultat je u skladu sa činjenicom da su se inbred linije dobijene iz lokalnih populacija sa prostora Zapadnog Balkana, a u okviru nacionalnih programa oplemenjivanja kukuruza u bivšoj Jugoslaviji, dobro ukrštale sa javnim američkim inbred linijama razvijenim iz sintetika kukuruznog pojasa (*corn belt*) SAD (Babić et al., 2011a). Sličan heterotični obrazac zabeležen je između linija evropskih komercijalnih tvrdućaca i američkih zubana (Reif et al., 2005b; Soengas et al., 2006).

Stevanović et al. (2012) navode značaj i korist koeficijenta korelacije kao statističke metode za utvrđivanje jačine (stepena) povezanosti između važnih kvantitativnih svojstava. Veza između prosečnih vrednosti populacija *per se* za ispitivane osobine i prosečnog efekta te populacije za date osobine u *test cross* ukrštanjima ispitivana je u okviru ove disertacije, a izražena je koeficijentom *Pirsonove* linearne korelacije, tzv. bivarijantne korelacije (korelacije između dve promenljive).

Prema Evansu (1996), utvrđena je jaka pozitivna korelacija između osobina dužina lista, širina lista i broj listova iznad klipa ($r=0,7539$; $r=0,7563$ i $r=0,7818$, respektivno), što ukazuje da visoke prosečne vrednosti datih osobina populacija *per se* prate visoki nivoi prosečnog efekta populacije za iste osobine u *test cross* hibridima. Veoma jaka pozitivna korelacija između vrednosti populacija *per se* i odgovarajućeg efekta populacije u *test cross* ukrštanjima, utvrđena je za visinu biljke, visinu klipa i njihovog međusobnog odnosa ($r=0,9019$; $r=0,9051$ i $r=0,8165$, respektivno). Takođe, su utvrđene veoma jake korelacije za osobine dužina klipa, prečnik klipa, prečnik oklaska, dubina zrna, broj redova zrna, broj zrna u redu i masa 1000 semena ($r=0,8214$; $r=0,8781$, $r=0,8695$; $r=0,8163$, $r=0,9166$, $r=0,8060$ i $r=0,8016$, respektivno). Postojanje statistički visoko značajnih korelacija između vrednosti populacija *per se* i vrednosti odgovarajućeg efekta populacije za određeno svojstvo, u *test cross* ukrštanjima, ukazuje da je opšta kombinaciona sposobnost populacija za dato svojstvo pod preovlađujućim uticajem aditivnog delovanja gena.

Poređenjem prosečne vrednosti prinosa zrna populacije *per se* i prosečnog efekta populacije za prinos zrna u *test cross* ukrštanjima, dobijena je slaba pozitivna korelacija, $r=0,3786$, koja je ipak bila statistički značajna ($p<0,05$). Statistički značaj korelacija prinosa zrna lokalnih populacija *per se* i prosečnih performansi lokalnih populacija u ukrštanju sa inbred testerima, ukazuje da je OKS (predstavljena kroz efekat majki-lokalnih populacija) pretežno pod uticajem aditivnog delovanja gena. Melani i Carena (2005) su takođe utvrdili pozitivan linearni odnos između prinosa zrna *per se* i odgovarajućih vrednosti OKS.

Davno je primećeno da ukrštanjem određenih heterotičnih parova prinos značajno raste, tako da se ovo saznanje u selekciji kukuruza intenzivno eksploatiše, te danas predstavlja osnovu modernog oplemenjivanja. Kada je u pitanju heterotični obrazac tvrdućac \times zuban, evropskog kukuruznog pojasa, nedostaje sistemaska evaluacija kombinacionih sposobnosti domaćih varijeteta (lokalnih populacija) tipa tvrdućca sa elitnim testerima zubana. Soengas et al. (2003, 2006) su ispitivali kombinacionu sposobnost deset domaćih varijeteta tvrdućaca sa četiri testera, a Moreno-Gonzales et al. (1997) su izvršili ocenjivanje test ukrštanja četiri sintetika tvrdućca. Međutim, interpretacija njihovih rezultata je bila otežana činjenicom da su korišćeni testeri poreklom iz različitih heterotičnih grupa uključujući i tvrdućce. Prema njihovom mišljenju, procena rane kukuruzne germplazme je važna za razvoj novih komercijalnih hibrida prilagođenih reonima sa hladnijim letnjim periodima. Kod većine komercijalnih oplemenjivačkih programa kukuruza za područja umerenog klimata, oplemenjivači rade sa odavno uspostavljenim heterotičnim grupama (Melchinger i Gumber, 1998). U tom slučaju, oplemenjivačka vrednost novog materijala za proširenje genetičke osnove je uglavnom određena njegovom opštom sposobnošću kombinovanja sa elitnim testerima suprotne heterotične grupe. Kako je prilikom introgresije nove germplazme u komercijalne programe veoma važno ne narušiti postojeći heterotični model (*pattern*), neophodno je pre uključivanja materijala iz banaka gena prethodno ispitati heterotičnu pripadnost kroz ispitivanje opšte i posebne kombinacione sposobnosti. Iz tog razloga, mnoga su se istraživanja fokusirala na

heterotično grupisanje lokalnih populacija i identifikaciju perspektivnih heterotičnih parova među njima (Revilla et al., 2006; Brauner et al., 2019).

Tester (homozigotne linije) u ovoj doktorskoj disertaciji odabrani su na osnovu pripadnosti različitim heterotičnim grupama. Prvi tester L217 pripada heterotičnoj osnovi *Iowa Dent*, drugi tester L73B013 pripada *Iowa Dent* × *BSSS*, a treći tester L255/75-5 pripada *Lancaster* heterotičnoj osnovi. Tester su odabrani na osnovu ranijeg poznavanja njihove genetičke pozadine, sa ciljem da se ukrštanjem sa lokalnim populacijama definiše heterotična pripadnost populacija.

Schwarz i Laugner (1969) tumače heterozis kao osnov modernog oplemenjivanja kukuruza na prinos zrna. Aktuelno oplemenjivanje kukuruza se zasniva na korišćenju malog broja heterotičnih parova. Zato se danas, kada je heterozis nesumnjivo najšire korišćen biološki fenomen (Melchinger i Gumber, 1998), pronalaženje novih heterotičnih parova u oplemenjivanju kukuruza smatra najkritičnijim faktorom iskorišćavanja raspoložive genetičke varijabilnosti. Goodman (1984) navodi postojanje dvanaest heterotičnih parova, ističući rasprostranjen heterotični par *BSSS* × *Lancaster*. Međutim, pored komercijalnog značaja heterozisa za prinos zrna, njegov značaj ogleđa se i kod drugih osobina. Pored heterozisa, Jocković et al. (1995) navode da je istovremeno postojanje i drugih poželjnih osobina važan faktor, u korišćenju germplazme kukuruza. Zato, Peeters et al. (1989, 1990) preporučuju da se izvrši nekoliko manjih stratifikacija germplazme na osnovu njihovog porekla, praveći manje poduzorke na kojima će se dalje raditi različite detaljne evaluacije, te na taj način vršiti odabir početnog materijala, a što je u saglasnosti sa metodološkim pristupom primenjenim u ovoj doktorskoj disertaciji.

Samo nekoliko istraživanja vršilo je upoređivanje i ocenjivanje kombinacione sposobnosti malog broja tvrdunaca u ukrštanjima sa testerima iz različitih heterotičnih grupa, pri čemu su analizirani glavni efekti faktora, kao i interakcije populacija i testera (Soengas et al., 2006). Zbog toga je posebno važno otkrivanje lokalne populacije MB1267, koja je po tipu zrna polutvrdunac, sa najboljom opštom kombinacionom sposobnošću.

Dvogodišnja istraživanja na severoistoku Španije sprovedena su na deset populacija kukuruza tipa tvrdunac, tako što su ukrštene populacije sa četiri inbred linije (*Reid Yellow Dent*, *Lancaster Sure Crop* i dve španske heterotične grupe tvrdunaca). Procenjujući *test cross* ukrštanja, Ruiz de Galarreta i Alvarez (2010) ističu da je dominantan uticaj gena bio aditivan, što je u skladu sa našim istraživanjima. Isti autori navode da sve populacije imaju višu posebnu kombinacionu sposobnost pri ukrštanju sa elitnim testerima *Reid Yellow Dent* ili *Lancaster*. Prosečan prinos bio je bolji u ukrštanju populacija sa linijama tipa zuban, dok je prinos bio niži pri ukrštanju sa inbred linijom tvrdunca EP42.

U ovim istraživanjima, najveći broj ispitivanih populacija (deset) izrazio je heterozis sa linijom L217, zatim sedam sa linijom L73B013 i šest sa *Lancaster*-ovom linijom L255/75-5 (Grafikon 34, 35 i 36). Pored toga, neke lokalne populacije su dale dobre rezultate istovremeno sa dva testera (Grafikon 37). Lokalne populacije MB1960, MB1665 i MB1569 istovremeno sa testerima L217 (*Iowa Dent*) i L73B013 (*Iowa Dent* × *BSSS*) daju heterozis. To se može delimično objasniti udelom germplazme *Iowa Dent* koja se nalazi u liniji L73B013 (12,5%). S druge strane, populacije MB1534, MB1346 i MB773 pokazale su se dobro sa dva različita inbred testera koji su komponente komercijalno uspešnih hibrida. Shodno tome, može se pretpostaviti da populacije koje pokazuju heterotični efekat istovremeno ukrštanjem sa L255/75-5 i L217, kao i populacije koje imaju heterotični efekat istovremeno ukrštanjem sa L255/75-5 i L73B013 predstavljaju nezavisnu heterotičnu grupu (Popović et al., 2020).

Izloženi rezultati su u skladu sa ranije objavljenim rezultatima koji su ukazivali na dobre karakteristike inbred linija izvedenih iz lokalne germplazme ukrštanjem sa inbred linijama dobijenim od *Lancaster Sure Crop*, *Reid Yellow Dent* i linijama dobijenim od *Pioneer* hibrida (Li et al., 2002, 2004). Zbog uske genetičke osnove komercijalnog materijala koji se upotrebljava u savremenom oplemenjivanju kukuruza, upotreba lokalne germplazme za traženje alternativnih heterotičkih parova postaje zanimljiva (Vančetović et al., 2015b) i posebno se može odnositi na lokalnu populaciju tvrdunca MB773.

Populacije evropskih tvrduca predstavljaju prirodne kandidate za introgresiju u heterotičnu osnovu tvrduca, jer je većina evropskih linija tvrduca dobijena iz malog broja lokalnih populacija evropskih tvrduca na početku hibridnog oplemenjivanja kukuruza (Brauner et al., 2019; Gouesnard et al., 2017; Reif et al., 2005a; Wilde et al., 2010). Iz tog razloga su važne informacije o kombinacionoj sposobnosti lokalnih populacija tvrduca u *test cross* ukrštanjima sa dve reprezentativne elitne linije (testera), a koje su poreklom iz heterotične osnove zubana.

7.2. Analiza molekularnih markera

Istraživanja heterotičnog potencijala potkrepljena su istraživanjima na molekularnom nivou korišćenjem molekularnih markera. U molekularna istraživanja pored linija koje su korišćene kao testeri u ukrštanjima sa populacijama (L217, L73B013 i L255/75-5), uključena su još dva testera (linije) F2 i Polj 17 za koje je poznato da međusobno daju visok heterozis, a dobijene su iz lokalnih populacija tvrduca Evropske germplazme.

Većina istraživača ističe značaj, visoku informativnost, ponovljivost i jednostavnost u radu sa *SSR* markerima, koji su kod kukuruza najčešće korišćeni markeri na bazi PCR-a (Dubreuil et al., 2006; Sharma et al., 2010; Cömertpay et al., 2012). Broj dobijenih alela u *SSR* analizi zavisi od nekoliko faktora: izbora prajmera, odnosno broja ponovaka (dinukleotidni, trinukleotidni ili prajmeri sa više ponovaka), tehnike razdvajanja i detektovanja fragmenata, veličine analiziranog uzorka, kao i od karakteristika (nivo homozigotnosti, poreklo, pojedinačni ili grupni uzorak) proučavanog materijala.

U molekularnoj analizi korišćen je veći broj prajmera sa tri ili više ponovaka, iako se odlikuju manjim polimorfizmom u odnosu na prajmere sa dinukleotidnim ponovcima, da bi se izbegla pojava „*stutter*” traka karakterističnih za prajmere sa dinukleotidnim ponovcima (Warburton et al., 2002, Vigouroux et al., 2002). Nešto manji broj prajmera imao je dinukleotidne ponovke (umc1282, bnlg1083, umc1013, bnlg1784, phi075, umc1006, umc1799, bnlg1782, umc1040). Razdvajanje fragmenata na 8% poliakrilamidnim gelovima je bilo zadovoljavajuće sa minimalnim greškama u detektovanju alela. Za molekularnu analizu korišćen je grupni uzorak, iako korišćenje grupnog uzorka može dovesti do toga da se ne detektuju aleli sa niskom frekvencijom nižom od $<0,02$ (Reif et al., 2005a). Takođe, veći broj analiziranih genotipova povećava mogućnost pronalaženja različitih alela u populaciji.

U okviru molekularne analize urađena je karakterizacija 31 populacije kukuruza i pet testera sa 29 odabranih *SSR* prajmera. Od ukupno 139 detektovanih alela svi su bili polimorfni. Relativno visok nivo polimorfizma može se objasniti širokom genetičkom osnovom analiziranih populacija. Prosečan broj alela u našim istraživanjima iznosio je 4,7. Slična prosečna vrednost alela (4,9) dobijena je u radu Beyene et al. (2005) sa 20 *SSR* markera, gde su ispitivane 62 lokalne populacije poreklom iz Etiopije. S druge strane, veći broj prosečnih alela (13) dobijen je u radu Sharma et al. (2010), koji su analizirali 48 populacija kukuruza iz Indije sa 42 prajmera. Ovako visok broj alela može se objasniti određivanjem rezolucije alela na DNK sekvenceru. Visoka vrednost prosečnog broja alela (10,6) dobijena je kod 56 populacija iz Alžira sa 18 *SSR* markera, gde je takođe korišćena tehnika fluorescentno obeleženih prajmera, što omogućava bolje razdvajanje fragmenata (Belalia et al., 2019). Značajno drugačiji rezultati su dobijeni u radu Molin et al. (2013) gde je prosečan broj alela po lokusu bio 2,2 i radu Noldin et al. (2016) sa 3,57 prosečnih alela po lokusu.

Genetičke distance kod svih proučavanih genotipova na osnovu *SSR* analize utvrđena je primenom standardnog koeficijenta distance po Nei-u, koji je pogodan za prikazivanje filogenetskih odnosa između populacija na osnovu alelnih varijacija. Na genetičku varijabilnost lokalnih populacija kukuruza uticali su različiti faktori, kao što su *outcrossing* (stranooplodnja) i mutacije koje dovode do povećanja diverziteta. Nei-ov standardni koeficijent genetičke distance kod populacija se zasniva na genetičkom driftu i mutacijama, koji dovode do divergentnosti populacija. Vrednosti genetičke distance lokalnih populacija su se kretale od 0,11 do 1,97, a srednja vrednost iznosila je 0,66. U ranijim radovima na lokalnim populacijama sa prostora bivše Jugoslavije analizirana genetička sličnost iznosila je od 0,52 do 0,58 (Ignjatović-Micić et al., 2007, Ignjatović-Micić et al., 2008; Ristić, 2013).

Niža srednja vrednost genetičke distance od 0,26 dobijena je u radu Reif et al. (2003b) između sedam tropskih populacija kukuruza pomoću 85 SSR markera. Nasuprot tome, značajna vrednost genetičke distance (od 0,26 do 0,60) dobijena je između 48 populacija iz oblasti Himalaja (Singode i Prasanna, 2010). Takođe, niska vrednost genetičke sličnosti (0,38) je dobijena u analizi 200 populacija iz Amerike i Evrope, ukazujući na visok diverzitet ispitivanog materijala. (Dubreuil et al., 2006).

Na osnovu matrica genetičkih sličnosti po Nei-u, za lokalne populacije i linije (testere) je urađena klaster analiza *UPGMA* metodom grupisanja. Dendrogram klaster analize, ukazuje na genetičku divergentnost ispitivanih populacija i linija kukuruza.

Na osnovu rezultata klaster analize lokalnih populacija kukuruza Zapadnog Balkana, uočeno je uslovno grupisanje (zbog postojanja izražene genetičke srodnosti linije L217 – *Iowa Dent* i L73B013 – *Iowa Dent* × *BSSS*) dva elitna testera u klaster A i jasno razdvajanje elitnog testera L255/75-5 (*Lancaster* osnove) kao grane D u okviru klastera B, što je očekivano s obzirom na poreklo korišćenih testera. Najveći broj genotipova lokalnih populacija se grupisao oko linija koje su i same nastale iz evropskih materijala F2 i Polj 17, a koje zajedno čine subklaster B1. Ovo je bilo u potpunoj saglasnosti sa podacima o njihovoj kombinacionoj sposobnosti (Filipović, 1988). Međutim, može se zaključiti da se jasno izdvaja populacija MB1509, specifična, nova genetička osnova na osnovu analize markera, izrazito različita ne samo od ispitivanih testera, već i od svih ispitivanih populacija.

Populacije koje su se na osnovu molekularnih markera klasifikovale u podklaster b_1 se morfološki dosta razlikuju. Lokalna populacija MB1890 je izrazito ranostasni tvrdućak, niske visine biljke sa nisko pozicioniranim klipom, FAO grupe 100 do 120, a koji se pridružuje populacijama sa većom visinom biljke MB1384 i MB1346. Takođe, populacije sa najmanjom genetičkom distancom su MB1665 i MB1569, a koje se fenotipski dosta razlikuju od prethodno opisanih populacija podklastera b_1 . Po tipu zrna pripadaju poluzubanima i zubanima, dužeg su vegetacionog perioda i robusnijeg habitusa. Efekat populacije MB1569 u *test cross* hibridima, u poljskim ogledima, ukazuje da ona unosi najvišu visinu biljke. Ovakvi rezultati ukazuju da lokalne populacije ovog podklastera poseduju zajedničku germplazmu, ali i da su dugogodišnjim ukrštanjem sa različitim materijalom, a potom dugogodišnjim uzgajanjem u različitim geografskim rejonima, formirale široku fenotipsku raznovrsnost. Ispitujući diverzitet 10 lokalnih populacija iz banke gena Instituta za kukuruz, u okviru panela od 166 populacija SNP markerima, Babić et al., (2019) su zaključili da se populacija MB1890 blisko grupisala sa populacijama tvrdućaka iz Severne Amerike i Evropskim tvrdućacima. Na osnovu datog istraživanja, ali i činjenice da se ovim populacijama pridružuje linija F2, može se pretpostaviti da zajednička germplazma potiče od germplazme evropskih i tvrdućaka Severne Amerike.

Posmatrajući dendrogram i grupu b_2 označenu narandžastom bojom (Grafikon 58) uočava se velika sličnost između populacija MB13 i MB1895 i populacija MB1267 i MB1276, gde im se sukcesivno pripajaju ostale populacije povećavanjem distance u odnosu na njih. Na osnovu prethodnih istraživanja Babić et al. (2019), populacija MB1895 pripada tipu italijanskih tvrdućaka, pa se može pretpostaviti da ove populacije narandžastog podklastera b_2 dele germplazmu italijanskih tvrdućaka. Poređenjem rezultata poljskih ogleda i rezultata dobijenih klaster analizom uočava se da, u okviru subklastera B1 posebnu grupu (b_2 – narandžasto) čine ultra–rane populacije tvrdućaka, sa biljkom niskog habitusa i nisko pozicioniranim klipom (MB2144, MB1960, MB13, MB1895, MB773, MB1534, MB1267, MB1276, MB846 i MB467).

Kao što je navedeno u rezultatima istraživanja postoje tri manje grupe lokalnih populacija koje čine podklaster b_3 – ljubičasta boja (Grafikon 58). Prva grupa populacija je blisko vezana za liniju Polj17. Na osnovu istraživanja Babić et al. (2019), populacija iz druge grupe MB594 pripada grupi evropskih tvrdućaka, a populacija iz treće grupe MB632 se grupisala blisko sa populacijama zubana američkog kukuruznog pojasa. Na osnovu ovih rezultata može se pretpostaviti da su populacije podklastera b_3 najverovatnije nastale ukrštanjem populacija tvrdućaka iz prvih introdukcija sa kasnije donešenim populacijama zubana američkog kukuruznog pojasa. Trifunović (1978) navodi da su se krajem XIX veka na prostore bivše Jugoslavije introdukovali zubani

američkog kukuruznog pojasa, što predstavlja četvrti značajniji talas introdukcije kukuruza u Evropu. Ove populacije su se brzo širile ravninama i dolinama reka, potisnuvši manje produktivne tvrdunce. U tom procesu ove nove populacije zubana su se ukrštale sa postojećim tvrduncima i tako formirale populacije evropskog kukuruznog pojasa, što je bila poslednja veća prirodna hibridizacija značajna za evoluciju kukuruza u Evropi.

Lokalne populacije iz podklastera b_4 označene braon bojom, čine (Grafikon 58) populacije poluzubana i zubana kod kojih je izražena zašiljenost vrha zrna, tipična kod zubana Južne Amerike. Populacije MB197 i MB288 ovog podklastera pripadaju 11-oj homogenoj grupi (Tabela 1), kao i populacija MB1509 koja formira posebnu granu dendrograma. Pripadnost istoj homogenoj grupi čini ih morfološki sličnim. U svojim istraživanjima, Babić et al. (2019) su zaključili da se populacija MB1509 grupisala blisko sa populacijama Meksičkih zubana i to populaciji *Chapalote* i *Gourdeseed Dent*, što je u skladu sa našim istraživanjima.

U cilju potpunijeg sagledavanja genetičke varijabilnosti genotipova kukuruza dobijenih SSR molekularnim markerima, urađena je korespodentna analiza, koja rezultate komplementarne klaster analizi, predstavlja u vidu kontinuirane varijabilnosti (Grafikon 60). Cavalli-Sforza et al. (1994) ističu značaj korespodentne analiza zbog njene informativnosti i veće preciznosti od klaster analize, pogotovo u slučajevima gde je prisutna značajna razmena genetičkog materijala između geografski bliskih populacija, kao što su lokalne populacije.

Ova analiza jasno je potvrdila izuzetnu genetičku varijabilnost ispitivanih lokalnih populacija. Najveći procenat genetičke varijabilnosti obuhvaćeno je prvom dimenzijom (D_1), 49,1%. Ovakav rezultat je delom posledica velike genetičke različitosti koju ispoljava populacija MB1509 u odnosu na ostali ispitivani material. Ova činjenica ne umanjuje značaj ostalih lokalnih populacija Zapadnog Balkana, već signalizira da bi populaciji MB1509 treba posvetiti posebnu pažnju i dodatno istraživanje.

Korespodentna analiza jasno je potvrdila poznati heterotični odnos između odabranih testera. Tako su na Grafikonu 59 tester T_1 i T_2 zauzeli pozicije pozitivnih vrednosti ose D_2 ; u odnosu na tester T_3 koji je na potpuno suprotnom kraju grafikona, zauzimajući negativne vrednosti D_2 i D_1 ose. Poznate informacije o odabranim ranim testerima T_4 i T_5 su potvrđene korespodentnom analizom jer se na grafikonima jasno vidi da zauzimaju suprotne pozicije. 3D dijagram korespodentne analize (Grafikon 60) pokazuje prostornu disperziju tačaka testera i lokalnih populacija u trodimenzionom prostoru gde do izražaja dolazi sva kompleksnost njihovih međusobnih odnosa.

Bilo bi idealno kada bi rezultati molekularnih markera bili dovoljno pouzdani prilikom ispitivanja heterotične pripadnosti, kao i opšte i posebne kombinacione sposobnosti, tako da ispitivanja u polju ne bi bila neophodna. Međutim, to nije tako. Brojna istraživanja ukazuju da molekularni pristup ne isključuje poljska ispitivanja i obrnuto. Istovremena primena oba pristupa daje najbolje rezultate (Smit i Smit, 1989). Kada se uporede rezultati PKS dobijene u polju, sa rezultatima molekularne analize SSR markerima (Tabela 56), uočava se da u najvećem broju slučajeva (sa izuzetkom populacije MB1960) populacije koje su ispoljile heterozis sa određenim testerom imaju opozitne vrednosti bilo prve, druge ili treće dimenzije korespodentne analize u odnosu na dati tester. To znači da su genetički divergentni. Međutim, brojne populacije su takođe na osnovu molekularnih markera pokazale divergentnost u odnosu na testere, ali u poljskim ogledima nisu dale heterozis. Dakle, ono što se sa većom pouzdanošću može utvrditi molekularnom analizom je sa kojim testerom data populacija neće dati heterozis. Da bi došlo do pojave heterozisa u ukrštanjima populacije sa nekim testerom neophodno je da postoji divergentnost između njih, ali je i u ovim istraživanjima potvrđeno da to nije i jedini potreban faktor. Troyer i Rocheford (2002) naglašavaju da introgresija male količine novog genetičkog materijala (mala količina nove DNK) može da ima značajan efekat na agronomske performanse. Stoga, pored veoma korisnih informacija koje se mogu dobiti molekularnim markerima, poljski ogledi još uvek ostaju nezamenljivi za potvrdu agronomske vrednosti novostvorenih hibridnih kombinacija.

Može se zaključiti da je varijabilnost koju poseduju lokalne populacije značajna. Potvrđen heterotičan potencijal koji nose lokalne populacije omogućava ispravan odabir početnog materijala za predoplemenjivanje i njihovo uvođenje u selekzione programe.

Tabela 56. Sumarni pregled položaja ispitivanih populacija kukuruza u 3D prostoru korespondentne analize

Matični broj	Testeri														
	L217			L73B013			L255/75-5			F2			Polj17		
	Vrednosti dimenzije														
	D ₁	D ₂	D ₃	D ₁	D ₂	D ₃	D ₁	D ₂	D ₃	D ₁	D ₂	D ₃	D ₁	D ₂	D ₃
-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
467	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1960	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	
773	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	
642	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1798	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2006	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
1945	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
1346	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1665	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
1509	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	
1534	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
2249	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
1450	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	
632	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
877	0+	0	+	0+	0	+	0+	0	+	0+	0	+	0+	0	+
288	-	+	0+	-	+	0+	-	+	0+	-	+	0+	-	+	0+
1569	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+

Legenda:

- + pozitivna vrednost date ose
- negativna vrednost date ose

7.3. Analiza kvalitativnih osobina

U selekciji kukurza je, pored prinosa i kvantitativnih osobina biljke i klipa, važno obratiti pažnju i na neka kvalitativna, tačnije pseudokvalitativna svojstva (po načinu nasleđivanja su takođe kvantitativna, tj. definisana su većim brojem gena sa manjim efektom, ali se ocenjuju kao kvalitativna, te se svrstavaju u kategorije). Genetička divergentnost koju poseduju lokalne populacije kukuruza oslikava se i u kvalitativnim osobinama. U okviru doktorske disertacije analizirano je pet osobina: boja vrha zrna, tip zrna, oblik klipa, pravost redova i boja oklaska; Dobijene informacije ispitivanih populacija i testera mogu biti korisne prilikom odabira početnog materijala.

Poznato je da su pigmenti prirodne materije, nosioci boja, prisutni u raznim biljnim organima. Boja zrna kukuruza je rezultat boje perikarpa, aleurona i endosperma i svaka pojedinačno je pod kontrolom većeg broja gena (Himi et al., 2002). Najzastupljenija kategorija boje vrha zrna činile su upravo žuta i žuto-narandžasta (45,55 i 30,45%, respektivno), dok su nešto manji procenat činile žuto-bela i narandžasta boja vrha zrna (10,46 i 10,82%, respektivno). Procentualno učešće sva tri testera je gotovo podjednako zastupljeno u navedenim kategorijama, što navodi na zaključak o

izuzetno velikom uticaju samih testera na boju vrha zrna. Frekvencije i procentualni udeo pojavljivanja u pojedinačnim kategorijama (Grafikon 41) za belu, žuto-belu, crveno-narandžastu i crvenu boju vrha zrna, je znatno manji i može se mahom pripisati alelima fiksiranim u lokalnim populacijama (Popović, 2019). Različite boje zrna nastaju kao posledica većeg ili manjeg prisustva određenih jedinjenja. Karotenoidi predstavljaju produkte izoprena, a mogu se podeliti na karotene i ksantofile. Karoteni se ogledaju u narandžasto-crvenoj boji, dok se prisustvo ksantofila zbog postojanja kiseonika u hidroksi, keto ili metoksi grupi ogleda u žutoj boji. Žuta boja zrna kukuruza potiče od luteina i zeaksantina, a crvena boja zrna kukuruza posledica je prisustva antocijana i flobafena, koji se sintetišu tokom procesa sinteze flavonoida (Winkel-Shirley, 2001). Posmatrano sa agronomskog stanovišta, s jedne strane, karotenoidi su značajni jer u velikoj meri utiču na izgled, povećavajući ili smanjujući tržišnu vrednost poljoprivrednog proizvoda, a sa druge, njihov sadržaj vezuje se za biološku vrednost samog proizvoda (β -karoten je provitamin A). Lopez-Martinez et al. (2009) ističu značaj fitohemikalija kao što su karotenoidi, antocijanini i fenolna jedinjenja, zbog njihovih visokih antioksidativnih aktivnosti.

Veliki broj studija otkrile su antimutagena, antioksidativna i hemopreventivna svojstva obojenog kukuruza (Lopez-Martinez et al., 2011; Mendoza-Diaz et al., 2012; Pedreschi i Cisneros-Zevallos, 2006). U prilog tome, treba istaći visoko procentualno učešće testera L217 u kategorijama crveno-narandžasta i crvena boja vrha zrna, što znači da poseduje veći broj alela za tu osobinu/boju. Iako najveći udeo (oko 80%) svetske proizvodnje zrna kukuruza se koristi za stočnu hranu, sve više i sve češće se koristi i kao zdrava/funkcionalna hrana za ljudsku ishranu. Takođe kukuruz je osnovna hrana u nedovoljno razvijenim i zemljama u razvoju Afrike i Latinske Amerike (Vančetović et al., 2014).

Izbor lokalnih populacija kukuruza vršen je u pravcu izbora ranostasnih tvrdunaca dobrih oplemenjivačkih karakteristika. Poznato je da je veća tvrdoća zrna vezana i za bolji tehnološki kvalitet (Samayoa et al., 2016). Takođe je odavno uočeno da se linije kukuruza u tipu tvrdunca bolje ukrštaju sa linijama kukuruza tipa zubana. To potvrđuju i istraživanja Sinobas i Monteagudo (1996), u kojima je uočeno ispoljavanje visokog heterozisa za prinos u ukrštanjima evropskih tvrdunaca i američkih zubana. Kravić (2013) navodi da je većina evropskih lokalnih populacija koje su se gajile u Evropi, nastala ukrštanjem germplazme evropskih tvrdunaca i germplazme zubana SAD-a, a što je dovelo do povećanja prinosa.

Uočen je veliki uticaj testera na tip zrna *test cross* hibrida. Zato je frekvencija zubana u odnosu na tvrdunce veća, iako su ispitivane lokalne populacije pretežno bile tvrdunci. Najzastupljenije kategorije u *test cross* hibridima su zuban sa 40,55%, poluzuban 20,07% i intermediarni tip sa 18,16%. Ispoljena varijabilnost u okviru *test cross* hibrida direktna je posledica heterozigotnosti populacija, koja se manifestuje frekvencijama pojavljivanja klipova u nekoj od kategorija. Soengas et al. (2003) ističu značaj i korist pronalazjenja drugih pogodnih izvora inbred linija tvrdunaca, u cilju proširenja genetičke osnove evropskih hibrida.

Unutar gen-pula tvrdunaca nisu definisane jasne heterotične grupe, kao što je to slučaj sa gen-pulom zubana. U početnim intodukcijama na podneblju Zapadnog Balkana pretežno su intodukovani tipovi tvrdunaca (Trifunović, 1978). Brandolini (1969) iznosi da je najveća varijabilnost tvrdunaca zabeležena u Italiji, a potom i među populacijama uzgajanim na prostorima jugoslovenskih zemalja.

Treba napomenuti da rane lokalne populacije imaju značajno veće frekvencije u kategoriji tvrdunaca i polutvrdunaca *test cross* hibrida, dok kasne populacije imaju veće frekvencije u kategoriji poluzubana i zubana, što je u skladu sa istraživanjima Babić et al. (2015). Može se konstatovati da je upravo kod ranih lokalnih populacija tip zrna tvrdunca ili polutvrdunca genetski fiksiran u uslovima spoljašnje sredine koji su više odgovarali takvim tipovima kukuruza. Utvrđena je i nešto veća frekvencija pojavljivanja tvrdunaca i polutvrdunaca u potomstvu testera L73B013 (poluzuban).

U oplemenjivanju kukuruza poželjan je cilindričan oblik klipa jer je takav oblik preduslov za postizanje većih prinosa zrna. Izrazito koničan oblik klipa nije poželjan, a najčešće je vezan i za široki oklasak i sporije otpuštanje vlage, koji su takođe nepoželjna svojstva. S obzirom da nijedan

od testera *per se* ne poseduje izrazito koničan oblik klipa, pretpostavljeno je da se ova kategorija verovatno pojavljivala usled uticaja pojedinih lokalnih populacija. U potomstvu populacija MB1267, MB1384, MB871, MB2006, MB1534 i MB1569 nije zabeležen ni jedan koničan oblik klipa ni sa jednim ispitivanim testerom (Grafikon 49). To govori da ove populacije ne poseduju nepoželjnu osobinu široke osnove klipa, a pojedine krase dobre OKS ili PKS vrednosti. U potomstvu testera L73B013 je zabeležen veći broj klipova koničnog oblika nego u potomstvu testera L217 i L255/75-5, što ukazuje da tester L73B013 poseduje znatno veći broj alela za koničan oblik klipa (širu klipnu osnovu i kratak klip), a ostala dva za cilindričan (Grafikon 48).

Boja oklaska za oplemenjivanje kukuruza nema nekog značaja, izuzev kod oplemenjivanja kukurza šećerca i kukuruza belog zrna kada je poželjan beli oklasak, pre svega zbog navika potrošača (Srđić et al., 2019). Wen et al. (2012) navode da oplemenjivači na osnovu iskustva tvrde da crvena boja plevica oklaska kukuruza može biti u vezi sa većom čvrstoćom klipa, koja je poželjna osobina zbog mogućih oštećenja tokom ručnog i/ili mašinskog branja, kao i sa otpornošću na plesnivost klipa tokom skladištenja. Takođe, u Kini, u umerenoj zoni gajenja kukuruza, postoji naklonjenost oplemenjivača da odabira, a želja farmera da uzgaja kukuruz sa crvenim oklaskom. U poređenju sa linijama umerenog pojasa, tropske linije kukuruza imaju značajno veći nivo genetičke varijabilnosti ove osobine. Ovu činjenicu Warburton et al. (2008) objašnjavaju da kukuruz iz tropskih predela i njegove originalne populacije (slobodnooprašujuće sorte) su manje izložene pritisku selekcije zbog kratke istorije hibridnog oplemenjivanja u poređenju sa selekcionim pritiskom na kukuruzu umerenog pojasa Kine i SAD. U potomstvu lokalnih populacija kukuruza i tri testera najčešće su se javljali klipovi srednje ocene boje oklaska. Što se tiče uticaja testera na ovu osobinu, zaključeno je da tester L73B013 daje više potomstva sa slabijim obojenjem plevica oklaska od testera L255/75-5.

U okviru ove disertacije ocenjivan je i raspored redova zrna. U komercijalnoj proizvodnji hibrida kukuruza poželjni su klipovi sa pravilnim rasporedom redova zrna koji su se u *test cross* hibridima najčešće pojavljivali (73,18%), dok je drugorangirana kategorija bila zavojit (spiralan) raspored zrna na klipu (20,63%). Kategorija nepravilan raspored redova zrna imala je učešće od 5,84%. Kategorija prav-ravan raspored redova zrna je oblik koji se sreće u tipu osmaka. Za ovu kategoriju karakteristično je i razdvajanje po dva reda u paru. Nepravilan raspored zrna u redu kao i razdvajanje (veliki razmak između redova) u oplemenjivanju kukuruza smatraju se lošim agronomskim i proizvodno neprihvatljivim osobinama. Kako korišćeni testeri nemaju ove nepoželjne karakteristike, pretpostavlja se da su se aleli za ove nepoželjne osobine zadržali u lokalnim populacijama, koje nisu bile podvrgnute gotovo nikakvoj veštačkoj selekciji. Trebalo bi naglasiti, da se ove nepoželjne kategorije nisu javljale u *test cross* hibridima, pri ukrštanju velikog broja lokalnih populacija sa sva tri testera.

Kratak osvrt na ove, možda naizgled manje bitne karakteristike (pseudokvalitativna svojstva) još jednom ukazuje na svu kompleksnost iskorišćavanja genetičke varijabilnosti koju nude genetički resursi.

VIII

ZAKLJUČAK

Osnovni zaključci ove doktorske disertacije su sledeći:

- Pokazalo se da se lokalne populacije tipa zubana, uglavnom, najbolje kombinuju za prinos zrna.
 - Statistički značajne korelacije prinosa zrna lokalnih populacija *per se* i prosečne performanse lokalnih populacija u ukrštanju sa inbred testerima, ukazale su da je aditivni efekat gena prevalentni faktor za determinisanje opšte kombinacione sposobnosti (OKS) za prinos zrna.
 - Za sve ispitivane kvantitativne osobine utvrđene su statistički jake i veoma jake pozitivne korelacije između vrednosti lokalnih populacija *per se* i OKS (efekta majki - populacija), pa i za njih važi da je OKS za te osobine pod aditivnim uticajem gena. Kada se posmatra efekat samih testera, uočeno je da je najveći prinos postignut ukrštanjem populacija sa testerom L73B013. U ukrštanju sa sva tri inbred testera, efekat lokalne populacije kukuruza MB1267 bio je najveći (8,36 t/ha), zatim slede lokalne populacije MB1346, MB197, MB1569, MB1509 i MB2036, ukazujući na njihovu najbolju OKS za prinos zrna. Navedene populacije se mogu smatrati vrednim nosiocima gena odgovornim za visoki prinos zrna u ukrštanjima sa germplazmom koja pripada različitim heterotičnim grupama.
 - Deset lokalnih populacija kukuruza (MB1945, MB1346, MB1509, MB1569, MB1450, MB1960, MB2006, MB1534, MB642 i MB1665) pokazalo je dobru PKS sa testerom L217 (heterotična grupa *Iova Dent*).
 - Sedam populacija (MB877, MB1960, MB632, MB1665, MB1569, MB1798, MB773) ispoljilo je dobru PKS sa testerom L73B013 (*BSSS* × *Iova Dent*).
 - Šest populacija (MB288, MB2249, MB773, MB1534, MB1346, MB467) ispoljilo je dobru PKS sa testerom L225/75-5 (*Lancaster* germplazma).
 - Istovremeno su identifikovani heterotični efekti sa dva različita inbred testera, ukazujući na postojanje nezavisne heterotične osnove u okviru ispitivanog gen-pula lokalnih populacija kukuruza.
 - Lokalne populacije su se na dendrogramu klaster analize grupisale u četiri jasno odvojene grupe i jednu granu, čime je utvrđeno da se populacija MB1509 na osnovu svoje genetičke distance značajno razlikuje od svih ostalih populacija, ali i korišćenih testera.
 - Može se zaključiti da su rezultati o fenotipskim vrednostima *test cross* hibrida iz poljskih ogleda s jedne strane, i dobijeni rezultati koeficijenata genetičke sličnosti/divergentnosti (molekularne karakterizacije roditeljskih genotipova) s druge, dobrim delom u saglasnosti, odnosno populacije koje su ispoljile dobru PKS sa određenim testerom ispoljile su veliku molekularnu divergentnost.
 - Brojne populacije su takođe ispoljile veliku molekularnu divergentnost sa određenim testerima, ali u poljskim ogledima nisu ispoljile visok heterozis, pa se stoga može zaključiti da je genetička divergentnost neophodan, ali ne i jedini uslov za ispoljavanje heterozisa.
 - Poređenjem rezultata poljskih istraživanja i rezultata analize molekularnim markerima sa visokom pouzdanošću se može zaključiti sa kojim testerima populacije neće dati heterozis.
 - Primenom molekularnih markera, pre ukrštanja u polju, može se postići racionalizacija (smanjivanjem broja ukrštanja) poljskih istraživanja.

IX

LITERATURA

- Abuali, A.I., Abdelmulla, A.A., Khalafalla, M.M., Idris, A.E., Osman, A.M. (2012): Combining ability and heterosis for yield and yield components in maize (*Zea mays* L.). Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 6(10):36-41.
- Altoveros, C.E. (2011): Applied experimental designs for agricultural research. Uni-versity of Sulamani, Kurdish, Irqi
- Anđelković, V., Kravić, N., Babić, V., Ignjatović-Micić, D., Dumanović, Z., Vančetović J. (2014): Estimation of drought tolerance among maize landraces from minicore collection. Genetika, 46(3):775- 788.
- Anđelković, V., Babić, V., Kravić, N. (2017): Genetički resursi u oplemenjivanju kukuruza, Selekcija i semenarstvo, 23(1):37-48.
- Angelo, M., Carvalho, P., Gannanca, J.F.T, Abreau, I., Sousa, N.F., Santos, T.M.M., Vieira, M.R.C., Motto, M. (2008): Genetic Resources and Crop Evolution, 55:221–233.
- Arnhold, E., Milani K.F. (2011): Rank-ordering coefficients of variation for popping expansion. Acta Scientiarum. Agronomy, 33(3):527-531.
- ASFIS/GEVES/GNIS (1998): Description of components and varieties of maize.
- Babić, M., Anđelković, V., Mladenović Drinić, S., Konstantinov, K. (2011a): The conventional and contemporary technologies in maize (*Zea mays* L) breeding at Maize Research Institut Zemun Polje. Maydica, 56(2):49–57.
- Babić, M., Babić, V., Prodanović, S., Filipović, M., Anđelković, V. (2012): Comparison of morphological and molecular genetic distances of maize inbreds. Genetika, 44(1):119-128.
- Babić, V., Babić, M., Filipović, M., Delić, N., Purar, B. (2011): Vizuelna ocena fenotipa po UPOV deskriptoru i srodnost linija kukuruza. Ratar. Povrt. 48:321-326.
- Babić, V., Vančetović, J., Prodanović, S., Anđelković, V., Babić M., Kravić, N. (2012): The identification of drought tolerant maize accessions by the two - step cluster analysis. Romanian agricultural research, 29:53-61.
- Babić, V., Ivanović, M., Babić, M. (2012a): Nastanak i evolucija kukuruza i putevi uvođenja u naše krajeve. Ratarstvo i povrtarstvo, 49(1):92-104.
- Babić, V., Vančetović, J., Prodanović, S., Kravić, N., Babić, M., Anđelković, V. (2015): Numerical classification of Western Balkan maize drought tolerant landraces. Journal of Agricultural Science and Technology, 17(2):455-468.
- Babić, V., Charcosset Alain, M., Brigitte, G., Nicolas, S., Mikić S., Mitrović, B., Bauland, M. Cyril, Anđelković, V. (2019): Genetic diversity of ten ex-Yugoslav maize landraces assessed with SNP markers within panel of 156 landraces. XXIVth EUCARPIA Maize and Sorghum Conference - Integrating quantitative and molecular genetics to develop new breeding methods in maize and sorghum. 7-9 Oct. Freising, Germany. Poster 2
- Barriere, Y., Alber, D., Dolstra, O., Lapierre, C., Motto, M., Ordas, A., van Waes, J., Vlaswinkel, L., Welcker, C., Monod, J. (2006): Past and prospects of forage maize breeding in Europe. II. History, germplasm evolution and correlative agronomic changes. Maydica, 51:435–449.
- Beadle, G.W. (1939): Teosinte and the origin of maize. J. Hered. 30:245-247.
- Beadle, G.W. (1980): The ancestry of corn. Scientific American, 242:112-119.

- Beaulieu, J.M., Moles, A.T., Leitch, I.J., Bennett, M.D., Dickie, J.B., Knight, C.A. (2007): Correlated evolution of genome size and seed mass. *New Phytol.* 173(2):422–437.
- Bedoya, C.A., Dreisigacker, S., Hearne, S., Franco, J., Mir, C., Prasanna, B.M., Taba, S., Charcosset, A., Warburton, M.L. (2017): Genetic diversity and population structure of native maize populations in Latin America and the Caribbean. *PLoS One* 12(4):e0173488.
- Belalia, N., Lupini, A., Djemel, A. Morsli, A., Manceri, A., Lotti, C., Khelifi-Slaoui, M., Khelifi, L., Sunseri, F. (2019): Analysis of genetic diversity and population structure in Saharan maize (*Zea mays* L.) populations using phenotypic traits and SSR markers. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 66(1):243–257.
- Bennetzen, J.L., Ma, J., Devos, K.M. (2005): Mechanisms of recent genome size variation in flowering plants. *Annals of Botany*, 95:127-132.
- Bennetzen, J.L. (2009): "Maize genome structure and evolution", in *Handbook of Maize: Genetics and Genomics*, J.L. Bennetzen and S. Hake, Eds., pp. 179–199, Springer, Berlin, Germany.
- Bertoia, L., Lopez, C., Burak, R. (2006): Biplot analysis of forage combining ability in maize landraces. *Crop Science*, 46(3):1346–1353.
- Beyene, Y., Botha, A., Myburg, A.A. (2005): A comparative study of molecular and morphological methods of describing genetic relationships in traditional Ethiopian highland maize. *African Journal of Biotechnology*, 4(7):586-595.
- Beyene, Y., Botha, A., Myburg, A.A. (2006): Genetic diversity among traditional Ethiopian highland maize accessions assessed by simple sequence repeat (SSR) markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53:1579–1588.
- Böhm, J., Schipprack, W., Mirdita, V., Utz, H.F., Melchinger, A.E. (2014): Breeding potential of European flint maize landraces evaluated by testcross performance. *Crop Science*, 54(4):1665–1672.
- Böhm, J., Schipprack, W., Mirdita, V., Utz, H.F., Melchinger, A.E. (2015): Breeding potential of European flint maize landraces evaluated by testcross performance. *Crop Science*, 54(4):1665–1672.
- Böhm, J., Schipprack, W., Utz, H.F., Melchinger, A.E. (2017): Tapping the genetic diversity of landraces in allogamous crops with doubled haploid lines: a case study from European flint maize. *Theoretical and Applied Genetic*, 130:861–873.
- Bracco, M., Lia, V.V., Gottlieb, A.M., Cámara Hernández, J., Poggio, L. (2009): Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. *Genetica*, 135(1):39-49.
- Brandenburg, J.T., Mary-Huard, T., Rigaille, G., Hearne, S.J., Corti, H., Joets, J., Vitte, C., Sharosset, A., Nicolas, D.N., Tenailon, M.I. (2017): Independent introductions and admixtures have contributed to adaptation of European maize and its American counterparts. *PLoS Genetic-open access* 13(3):e1006666.
- Brandolini A., Brandolini, A. (2009): Maize introduction, evolution and diffusion in Italy. *Maydica*, 54:233-242.
- Brandolini, A.G. (1969): European races of corn. *Ann. Corn and Sorghum Research Conf. Proc.* 24:36-49.
- Brauner, P.C., Schipprack, W., Utz, H.F., Bauer, E., Mayer, M., Schön, C.C., Melchinger, A.E (2019): Testcross performance of doubled haploid lines from European flint maize landraces is promising for broadening the genetic base of elite germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 132(6):1897-1908.

- Brown, W.L., Anderson, E. (1948): The Southern dent corns. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 35.
- Brown, A.H.D. (1999): The genetic structure of crop landraces and the challenge to conserve them in situ on farms. In: *Genes in the Field. On Farm Conservation of Crop Diversity* (ed. Brush SB), pp. 29–48. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.
- Bruce, A.B. (1910): The Mendelian theory of heredity and the augmentation of vigor. *Science*, 32: 627-628.
- Brush, S.B. (1995): *In situ* conservation of landraces in centres of crop diversity. *Crop Science*, 35:346–354.
- Cairns, J.E., Sonder, K., Zaidi, P.H., Verhulst, N., Mahuku, G., Babu, R., Nair, S.K., Das, B., Govaerts, B., Vinayan, M.T., Rashid, Z., Noor, J.J., Devi, P., Vicente, F. san, Prasanna, B.M. (2012): Maize production in a changing climate: impacts, adaptation and mitigation strategies. *Advances in Agronomy*, 114:1-58.
- Čamdžija, Z. (2014): Kombinacione sposobnosti za prinos zrna i agronomska svojstva ZP inbred linija kukuruza. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu – Poljoprivredni fakultet.
- Carena, M.J. (2005): Maize commercial hybrids compared to improved population hybrids for grain yield and agronomic performance. *Euphytica*, 141:201-208.
- Castellanos, J.S., Hallauer A.R., Cordova H.S. (1998): Relative performance of testers to identify elite lines of corn (*Zea mays* L.). *Maydica*, 43:217-226.
- Cavalli-Sforza, L.L., Menozzi, P., Piazza A. (1994): Phylogenetic analysis of America. In: *The history and geography of human genes*. Princeton University Press: 320-330.
- Chambers, K.G., MacAvoy, E.S. (2000): Microsatellites: consensus and controversy. *Comp. Biochem. Physiol. (Part B)*, 126:455-476.
- Collins, G.N. (1921): Dominance and vigor of first generation hybrids. *Am. Nat.* 55:116-133.
- Cömertpay, G., Baloch, F.S., Kilian, B., Ülger, A.C., Özkan, H. (2012): Diversity assessment of Turkish maize landraces based on fluorescent labelled SSR markers. *Plant Mol. Biol. Report.* 30:261–274.
- Crossa, J., Taba, S., Welhausen, E.J. (1990): Heterotic patterns among mexican races of maize. *Crop Science*, 30:1182-1190.
- Crow, J.F. (1948): Alternative hypothesis of hybrid vigor. *Genetics*, 33:477-487.
- Dhillon, B.S., Singh, J., Sethi, A.S. (1975): Varietal performance as a measure of general combining ability in maize. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 75:30-35.
- Doebley, J.F., Stec A. (1991): Genetic analysis of the morphological differences between maize and teosinte. *Genetics*, 129:285-295.
- Doebley, J.F. (2004): The genetics of maize evolution. *Ann. Rev. Genet.* 38:37-59.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L. (1990): Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12:13-15.
- Dragović, V. (2008): *Statistika. Zavod za udžbenike i nastavna sredstva Istočno Sarajevo.* str: 784.
- Dubreuil, P., Charcosset, A. (1999): Relationships among maize inbred lines and populations from European and North-American origins as estimated using RFLP markers. *TheorAppl Genet*, 99(3-4):473–480.
- Dubreuil, P., Warburton, M.L., Chastanet, M., Hoisington, D., Charcosset, A. (2006): More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica*, 51(2):281–291.

- Duvick, D.N. (2005): Genetic progress in yield of United States maize (*Zea mays* L.) *Maydica*, 50:193-202.
- East, E.M. (1908): Inbreeding in corn. *Rep. Conn. Agric. Exp. Stn.* 419–428.
- East, E.M. (1936): Heterosis. *Genetics*, 21:375-397.
- Edwards, A., Civitello, A., Hammond, H.A., Caskey, C.T. (1991): DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49:746-756.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., Mitchell, S.E. (2011): A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE* 6(5):e19379.
- Eyhérabide, G.H., Gonzáles, A.S. (1997): Interactions between testers and Argentine maize landraces. *Maydica*, 42:29-38.
- FAOSTAT (2010): www.fao.org
- FAOSTAT (2019): <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Filipović, M. (1988): Genetičke i fenotipske korelacije važnijih agronomskih svojstava ranostasnih hibrida kukuruza zubana, tvrduca i poluzubana. Magistarski rad, Poljoprivredni fakultet - Novi Sad.
- Gadaleta, A., Giancaspro, A., Giove, S.L., Zacheo, S., Mangini, G., Simeone, R., Signorile, A., Blanco, A. (2009): Genetic and physical mapping of new EST-derived SSRs on the A and B genome chromosomes of wheat. *TAG. Theor. Appl. Genet.* 118(5):1015-1025.
- Gadelmann, J. (1986): Adapting exotic germplasm into the northern corn belt. Twenty-second annual Illinois Corn Breeders School, March 3 and 4 1986 Urbana-Champaign, IL.
- Ghosh, D.K., Divecha, J. (1997): Two associate class partially balanced incomplete block designs and partial diallel crosses. *Biometrika*, 84:245-248.
- Goodman, M.M. (1984): Evaluation of exotic. 20th Ann. Illinois Corn Breeders School Proc. 20:85-101.
- Goodman, M.M. (1990): Genetic and germplasm stocks worth conserving. *J. Hered.* 81:11-16.
- Gorjanc, G., Jenko, J., Hearne, S.J., Hickey, J.M. (2016): Initiating maize prebreeding programs using genomic selection to harness polygenic variation from landrace populations. *BMC Genom.* (17):1–15.
- Gouesnard, B., Dallard, J., Panouille, A., Boyat, A. (1997): Classification of French maize populations based on morphological traits. *Agronomie*, 17:491–498.
- Gouesnard, B., Dallard, J., Bertin, P., Boyar, A., Charcosset, A. (2005): European maize landraces: genetic diversity, core collection definition and methodology of use. *Maydica*, 50:225-234.
- Gouesnard, B., Zanetto, A., Welcker, C. (2016): Identification of adaptation traits to drought in collections of maize landraces from southern Europe and temperate regions. *Euphytica*, 209: 565–584.
- Gouesnard, B., Negro, S., Laffray, A., Glaubitz, J., Melchinger, A., Revilla, P., Moreno Gonzalez, J., Madur, D., Combes, V., Tollon Cordet, C., Laborde, J., Kermarrec, D., Bauland, C., Moreau, L., Charcosset, A., Nicolas, S. (2017): Genotyping-by-sequencing highlights original diversity patterns within a European collection of 1191 maize flint lines, as compared to the maize USDA genebank. *Theoretical and Applied Genetics*, 130(10):2165–2189.

- Haberer, G., Young, S., Bharti, A.K., Gundlach, H., Raymond, C., Fuks, G., Butler, E., Wing, R.A., Rounsley, S., Birren, B., Nusbaum, C., Mayer, K.F.X., Messing, J. (2005): Structure and architecture of the maize genome. *Plant Physiology*, 139:1612-1624.
- Hadživuković, S. (1991): *Statistički metodi*. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Hallauer, A.R., Miranda, J.B. (1981): *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa State University Press/Ames., Iowa.
- Hallauer, A.R., Russell, W.A., Lamkey, K.R. (1988): Corn breeding. In: Sprague, G.F., Dudley, J.W. (Ed.) *Corn and corn improvement*. Madison: American Society of Agronomy, pp. 463-563.
- Hallauer, A.R., Carena, M.J. (2009): Maize breeding. In: *Handbook of Plant Breeding: Cereals*. Carena, M.J. (ed) Springer, New York, pp. 3-98.
- Hallauer, A.R., Carena, M.J., Miranda Filho, J.B. (2010): *Quantitative genetics in maize breeding*. Springer, New York.
- Hawkes, J.G. (1987): N.I.Vavilov. The man and his work. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 72. IBPGR/FAO, Rome.
- Himi, E., Mares, D.J., Yanagisawa, A., Noda, K. (2002): Effect of grain color gene (R) on grain dormancy and sensitivity of the embryo to abscisic acid (ABA) in wheat. *Jurnal of Experimental Botany*, 53(374):1569-74.
- Hoisington, D., Khairallah, M., Ribaut, J.M., Skovmand, B., Taba, S., Warburton, M. (1999): Plant genetic resources: what can they contribute toward increased crop productivity? *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 8133–8138.
- Hölker, A., Schipprack, W., Molenaar, W., Melchinger, A.E. (2019): Progress for testcross performance within the flint heterotic pool of a public maize breeding program since the onset of hybrid breeding. *Euphytica*, 215(3):50.
- Horvat, D., Ivezić, M. (2005): *Biometrika u poljoprivredi*. Gradska i sveučilišna knjižnica - Osijek.
- Hugues, A.N., Akanvou, L., Bi, A.Z., Kouakou, C.K. (2015): Phenotypic diversity of farmers traditional maize (*Zea mays* L.) varieties in Cote d'Ivoire. *Maydica*, 60.
- Hull, F.H. (1945): Recurrent selection for specific combining ability in corn. *J. Am. Soc. Agron.* 37:134-145.
- IBPGR, (1991): *Descriptors for maize*. International Maize and Wheat Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources. Rome.
- Ignjatović-Micić, D., Mladenović Drinić, S., Nikolić, A., Lazić-Jancić, V. (2007): Comparison of AFLP and SSR markers for genetic diversity studies in maize populations. *Maydica*, 52:399-406.
- Ignjatović-Micić, D., Mladenović Drinić, S., Nikolić, A., Lazić-Jancić, V. (2008): SSR-analysis for genetic structure and diversity determination of maize local populations from former Yugoslavia territories. *Russian Journal of Genetics*, 44(11):1317–1324.
- Ilarslan, R., Kaya, Z., Kandemir, I., Bretting, P.K. (2002): Genetic variability among Turkish pop, flint and dent corn maize (*Zea mays* L. spp. *mays*) races: Morphological and agronomic traits. *Euphytica*, 128:173–182.
- Ivanović, M., Petrović, R., Drinić, G., Trifunović, V., Kojić, L., Vuković, M., Mišović, M., Radović, G., Ristanović, D., Pajić, Z., Trifunović, B., Jelovac, D. (1995): Pedeset godina selekcije ZP hibrida kukuruza - oplemenjivanje, proizvodnja i iskorišćavanje kukuruza. in: *Simpozijuma Oplemenjivanje, proizvodnja i iskorišćavanje kukuruza - 50 godina Instituta za kukuruz Zemun Polje*, 28-29 septembar, Beograd, Zbornik radova, str. 3-16.

- Ivanović, M., Vasić, N., Trifunović, V., Vidojević, Ž., Vuković, M., Jakovljević, L., Jovandić, N. (2002): Inbred linije koje su obeležile jugoslovensku selekciju kukuruza. Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo - Novi Sad, (36):301-310.
- Jenkins, M.T., Brunson, A.M. (1932): A method of testing inbred lines of maize in crossbred combinations. *Journal of American Society of Agronomy*, 24:523-534.
- Jenkins, M.T. (1936): Corn improvement. In: Bresman, E.S. (Ed.), *Yearbook of agriculture*. USDA, Washington, DC.
- Jocković, Đ., Stojaković, M., Bekavac, G., Purar, B., Popov, R., Vasić, N. (1995): Grain yield stability of maize hybrids of different maturity groups. *Journal of Scientific Agricultural Research*, 56(202):3-11.
- Jones, D.F. (1917): Dominance of linked factors as a means of accounting for heterosis. *Genetics*, 2:466-479.
- Keeble, F., Pellew, C. (1910): The mode of inheritance of stature and of time of flowering in peas (*Pisum sativum*). *J. Genet.* 1:47-56.
- Kempthorne, O. (1957): *An introduction to genetic statistics*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Kimura, M., Crow, J.F. (1964): The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics*, 49(4):725-738.
- Kravić, N. (2013): *Analiza genetičke varijabilnosti kukuruza na tolerantnost prema suši*. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet.
- Kuleshov, N.N. (1933): World's diversity of phenotypes of maize. *J. Am. Soc. Agron.*
- Kumar, A., Kumari, J., Rana, J.C., Chaudhary, D.P., Kumar, R., Singh, H., Singh, T.P., Dutta, M. (2015): Diversity among maize landraces in North West Himalayan region of India assessed by agro-morphological and quality traits. – *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 75(2):188-195.
- Lamkey, K.R. (1992): 50 years of recurrent selection in the Iowa Stiff Stalk Synthetic maize population. *Maydica*, 37:19-28.
- Le Clerc, V., Bazante, F., Baril, C., Guiard, J., Zhang D. (2005): Assessing temporal changes in genetic diversity of maize varieties using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(2):294–302.
- Lee, E.A., Doerksen, T.K., Kannenberg, L.W. (2003): An empirical method of grouping genotypes based on a linear function of the genotype-environment interaction. *Heredity*, 34:255-263.
- Lekić, S.S. (2009): *Ispitivanje semena*. Scanner Studio – Beograd, str. 150.
- Leng, E.R., Tavčar A., Trifunović, V. (1962): Maize of Southeastern Europe and its potential value in breeding programs elsewhere. *Euphytica*, 11(3):263-276.
- Li, Y., Du, J., Wang, T., Shi, Y., Song, Y., Jia, J. (2002): Genetic diversity and relationships among Chinese maize inbred lines revealed by SSR markers. *Maydica*, 47(2):93–101.
- Li, Y., Shi, Y.S., Cao, Y.S., Wang, T.Y. (2002a): A phenotypic diversity analysis of maize germplasm preserved in China. *Maydica*, 47:107–114.
- Li, Y., Shi, Y., Song, Y., Du, J., Tuberosa, R., Wang, T. (2004): Analysis of genetic diversity in maize inbred lines based on AFLP markers. *Maydica*, 49(2):89–95.
- Litt, M., Luty, J.A. (1989): A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.* 44(3):397-401.
- Lootens, P., Chaves, B., Baert, J., Pannecouque, J., van Waes, J., Roldan-Ruiz, I. (2013): Comparison of image analysis and direct measurement of UPOV taxonomic characteristics

- for variety discrimination as determined over five growing seasons, using industrial chicory as a model crop. *Euphytica*, 189:329-341.
- Lopez-Martinez, L.X., Oliart-Ros, R.M., Valerio-Alfaro, G., Lee, C.H., Parkin, K.L., Garcia, H.S. (2009): Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *Food Science and Technology*, 42:1187–1192.
- Lopez-Martinez, L.X., Parkin, K.L., Garcia, H.S. (2011): Phase II-inducing, polyphenols content and antioxidant capacity of corn (*Zea mays* L.) from phenotypes of white, blue, red and purple colors processed into masa and tortillas. *Plant Foods Hum Nutr.* 66(1):41-7.
- Louette, D., Smale, M. (2000): Farmers' seed selection practices and traditional maize varieties in Cuzalapa, Mexico. *Euphytica*, 113:25–41.
- Malik, H.N., Malik, S.I., Hussain, M., Shughtai, S.U.R., Javed, H.I. (2005): Genetic correlation among various quantitative characters in maize (*Zea mays* L.) hybrids. *J. Agri. Soc. Sci.* 1(3):262-265.
- Malosetti, M., Ribaut, J.M., Van Eeuwijk, F.A. (2013): The statistical analysis of multi-environment data: modeling genotype-by-environment interaction and its genetic basis. *Frontiers in Physiology*, 4:1-17.
- Malvar, R., Revilla, P., Butron, A., Gouesnard, B., Boyat, A., Soengas, P., Alvarez, A., Ordas, A. (2005): Performance of crosses among French and Spanish maize populations across environments. *Crop Sci.* 45(3):1052–1057.
- Mangelsdorf, P.C., Reeves, R.G. (1938): The origin of Indian corn and its relatives. *Texas Agric. Exp. Station Bulletin 574*, College Station, TX.
- Marshall, D.R. (1989): Limitations to the use of germplasm collections. In: Brown, A.D.H., Frankel, O.H., Marshall, D.R., Williams, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. Cambridge: University Press, pp. 105-120.
- Matsuoka, Y., Vigouroux, Y., Goodman, M.M., J. Sanchez, G., E. Buckler, Doebley, J. (2002): A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 99:6080-6084.
- Matus, I., Hayes, P.M. (2002): Genetic diversity in three groups of barley germplasm assessed by simple sequence repeats. *Genome*, 45:1095–1106.
- Mayer, M., Unterseer S., Bauer E., de Leon N., Ordas B., Schön C.C. (2017): Is there an optimum level of diversity in utilization of genetic resources? *Theoretical and Applied Genetics*, 130(11):2283–2295.
- Meghji, M.R., Dudley, J.W., Lambert, R.J., Sprague G.F. (1984): Inbreeding depression, inbred and hybrid grain yields, and other traits of maize genotypes representing three eras. *Crop Science*, 24:545-549.
- Melani, M.D., Carena M.J. (2005): Alternative maize heterotic patterns for the Northern Corn Belt. *Crop Science*, 45(6):2186–2194.
- Melchinger, A.E., Messmer, M.M., Lee, M., Woodman, W.L., Lamkey, K.R. (1991): Diversity and relationship among U.S. maize inbreds revealed by restriction fragment length polymorphism. *Crop Sci.* 31:669-678.
- Melchinger, A.E., Gumber, R.K. (1998): Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. In: Kendall, R.L. and Staub, J.E., editors, *Concepts and breeding of heterosis in crop plants*. 25th ed. Crop Science Society of America, Madison, WI. pp. 29–44.
- Mendoza-Díaz, S., Ortiz-Valerio, M.d.C., Castaño-Tostado, E., Dios Figueroa, J.D., Reynoso-Camacho, R., Ramos-Gomez, M., Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G. (2012): Antioxidant

- capacity and antimutagenic activity of anthocyanin and carotenoid extracts from nixtamalized pigmented creole maize races (*Zea mays* L.). *Plant Foods Hum Nutr.* 67:442-449.
- Meseka, S., Ishaq, J. (2012): Combining ability analysis among Sudanese and IITA maize germplasm at Gezira Research Station. *Journal of Applied Biosciences*, 57:4198-4207.
- Messing, J. (2005): Maize genomics. In D Leister, ed, *Plant Functional Genomics*. Haworth's Food Products Press, Binghamton, New York. pp. 279–303.
- Messmer, M.M., Melchinger, A.E., Boppenmaier, J., Brunkhaus- Jung, E., Herrmann R.G. (1992): Relationships among early European maize inbreds: I. Genetic diversity among flint and dent lines revealed by RFLPs. *Crop Sci.* 32:1301–1309.
- Metzger, M.J., Shkaruba, A.D., Jongman, R.H.G., Bunce, R.G.H. (2012): Descriptions of the European environmental zones and strata. Wageningen, Alterra, Alterra Report 2281, pp. 152.
- Metzger, M. J., Brus, D.J., Bunce, R.G.H., Carey, P.D., Gonçalves J., Honrado J.P., Jongman, R.H. G., Trabucco, A., Zomer, R. (2013): Environmental stratifications as the basis for national, European and global ecological monitoring. *Ecological Indicators*, 33:26–35.
- Mićić, N., Bosančić, B. (2012): Varijabilitet i koeficijenti varijacije u biološkim i poljoprivrednim istraživanjima. *Agro-knowledge Journal*. Poljoprivredni fakultet - Univeziteta u Banja Luci.
- Mirić, M. Selaković, D., Jovin, P., Hojka, Z., Filipović, M. (2007): Masa 1000 semena u teoriji i praksi. *Selekcija i semenarstvo*, 13(3-4):49-58.
- Molin, D., Coelho, C.J., Máximo, D.S., Ferreira, F.S., Gardingo, J.R., Matiello R.R. (2013): Genetic diversity in the germplasm of tropical maize landraces determined using molecular markers. *Genetics and Molecular Research*, 12(1):99-114.
- Moll, R.H., Lonquist, J.H., Wlez Fortuno, J., Johnson, E.C. (1965): The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. *Genetics*, 52:139-144.
- Moreno-Gonzalez, J., Ramos-Gourcy, F., Losada E. (1997): Breeding potential of European flint and earliness-selected U.S. Corn Belt dent maize populations. *Crop Sci.* 37:1475–1481.
- Mungoma, C., Pollak, L.M. (1988): Heterotic patterns among ten Corn Belt and exotic maize germplasm. *Crop Science*, 28:500-504.
- Muñoz-Diez, C., Vitte, C., Ross-Ibarra, J., Gaut, B.S., Tenaillon, M.I. (2012): Using next sequencing to investigate genome size variation and transposable element content in Plant Transposable *Elements* (ed. Grandbastien, M.-A. & Casacuberta, J. M.); Springer, Berlin – Heidelberg, 41–58.
- Murariu, M., Murariu, D., Placinta, D.D., Leonte, C., Simioniuc, D-P., Leahu, A., Avramiuc, M., (2011): Evaluation of romanian maize local landraces for increasing the efficiency of their use in breeding programs. *Lucrări științifice - seria Agronomia*, 54(2):77-83.
- Nagy, E., Gyulai, G., Szabo, Z., Hegyi, Z., Marton, L.C. (2003): Application of morphological descriptions and genetic markers to analyse polymorphism and genetic relationships in maize (*Zea mays* L.). *Acta Agronomica Hungarica*, 51(3):257-265.
- Nass, L.L., Pellicano, I.J., Valois, A.C.C. (1993): Utilization of genetic resources for maize and soybean breeding in Brazil. *Brazilian Journal of Genetics*, 16:983-988.
- Nass, L.L., Paterniani E. (2000): Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Sciencia Agricola*, 57(3):581–587.
- Nei, M. (1972): Genetic distance between populations. – *Am.Nat.* 106:283 – 292.

- Nikolić, M. (1927): Kukuruz, upotreba, osobine, sorte, gajenje; Izdanje knjižare Gece Kona, Beograd.
- Noldin, O., Revilla, P., Ordás, B. (2016): Genetic diversity of the floury race of maize Avati Morotí from the Guaraní tribe in Paraguay. *Span. J. Agric. Res.* 14:e0707.
- Ortiz, R., Crossa, J., Franco, J., Sevilla, R., Burgueño, J. (2008): Classification of Peruvian highland maize races using plant traits. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(1):151-162.
- Ortiz, R., Taba, S., Chávez Tovar, V.H., Mezzalama, M., Xu, Y., Yan, J., Crouch, J.H. (2010): Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods – A perspective from CIMMYT. *Crop Science*, 50(1):13–28.
- Palmer, L.E., Rabinowicz, P.D., O'Shaughnessy, A.L., Baliya, V.S., Nascimento, L.U., Dike, S., de la Bastide, M., Martienssen, R.A., McCombie, W.R. (2003): Maize genome sequencing by methylation filtration. *Science*, 302:2115–2117.
- Pataki, I. (2010): Kombinacione sposobnosti i način nasleđivanja komponenti prinosa F1 hibrida krmnog sirka (*Sorghum bicolor* L. Moench) stvorenih ukrštanjem sirka za zrno i sudanske trave. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu - Poljoprivredni fakultet.
- Patto, M.C., Satovic, Z., Pêgo, S., Fevereiro, P. (2004): Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica*, 137:63–72.
- Pavličić, J., Trifunović, V. (1966): Prilog poznavanju nekih značajnih ekotipova kukuruza gajenih u Jugoslaviji i njihova klasifikacija, *Arhiv za poljoprivredne nauke; Jour. Sci. Agron. Res* XIX (66):44-62.
- Pavlov, J. (2013): Uticaj sestrinskih ukrštanja na prinose i agronomske osobine kukuruza (*Zea mays* L.). Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni Fakultet.
- Pedreschi, R., Cisneros-Zevallos, L. (2006): Antimutagenic and antioxidant properties of phenolic fractions from Andean purple corn (*Zea mays* L.). *J. Agric Food Chem*, 54(13):4557-4567.
- Peeters, J.P., Martinelli, J.A. (1989): Hierarchical cluster analysis as a tool to manage variation in germplasm collections. *Theor. Appl. Genet.* 78:42-48.
- Peeters, J.P., Wilkes, H.G., Galwey, N.W. (1990): The use of ecogeographical data in the exploitation of variation from gene banks. *Theor. Appl. Genet.* 80(1):110-112.
- Piperno, D.R., Flannery, K.V. (2001): The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: new accelerator mass spectrometry dates and their implications. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, 98:2101–2103.
- Poehlman, J.M., Sleper, D.A. (1995): *Breeding field crops*, Iowa State University Press, Ames.
- Pollak, L.M. (2003): The history and success of the public-private project on germplasm enhancement of maize (GEM). *Adv. Agron.* 78:45-48.
- Popović, A. (2013): Evaluacija lokalnih populacija kukuruza povećane tolerantnosti na sušu. Master rad, Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Popović, A., Babić, V., Kravić, N., Sečanski, M., Prodanović, S. (2014): Mogući pravci oplemenjivanja i poljoprivredne mere u cilju prilagođavanja biljaka na klimatske promene u Srbiji. *Selekcija i semenarstvo*, 20(2):59-72.
- Popović, A., Prodanović, S., Kravić, N., Golijan, J., Sečanski, M., Ristić, D., Babić, V. (2019): Qualitative traits of *top cross* hybrids derived from Western Balkan maize landraces. *Book of abstracts, VIII International Symposium on Agricultural Sciences "AgroReS 2019" - Trebinje*, pp.43.

- Popović, A., Kravić, N., Prodanović, S., Filipović, M., Sečanski, M., Babić, V., Mirițescu, M. (2020): Characterisation and evaluation towards selection of maize landraces with the best per se performances. Nardi Fundulea, Romania – Romanian Agricultural Research, 37 (*First online*)
- Prasanna, B.M. (2010): Phenotypic and molecular diversity of maize landraces: characterization and utilization. *Indian J. Genet.* 70:315–327.
- Prasanna, B.M., Pixley, K.V., Warburton, M.L., Chuan-Xiao, Xie (2010): Molecular marker-assisted breeding options for maize improvement in Asia. *Molecular Breeding*, 26(2):339-356.
- Pressoir, G., Berthaud, J. (2004): Patterns of population structure in maize landraces from the Central Valleys of Oaxaca in Mexico. *Heredity*, 92:88–94.
- Prodanović, S., Sabljarević, V., Šurlan-Momirović, G., Zorić, D., Perović, D., Živanović, T. (1996): Genetic values of yield components and protein content in F1 generation of maize (*Zea mays L.*) hybrids. Abstracts of the XVIIth EUCARPIA conference on genetics, biotechnology and breeding of maize and sorghum. Thessaloniki, Greece, p.126.
- Prodanović, S., Živanović, T., Dražić, S. (2001): Mapiranje biljnih genoma mikrosatelitima. *Selekcija i semenaštvo*, 8(1-4):37-44.
- Prodanović, S., Šurlan-Momirović G., Rakonjac, V., Petrović, D. (2015): Genetički resursi biljaka – monografija. Poljoprivredni fakultet – Univerziteta u Beogradu.
- Radić, R. (1872): Sve o kukuruзу. "Društvo za poljsku privredu", Beograd.
- Radović, G. (1980): Raznovrsnost kukuruznih populacija Jugoslavije i njihov značaj za oplemenjivanje. Zbornik radova sa Međunarodnog simpozijuma o proizvodnji, preradi i upotrebi kukuruza, Beograd. 15-19 septembra, str. 81-87.
- Radović, G., Gerić, I. (1986): Lokalne sorte kukuruza na tlu Jugoslavije i njihov značaj u oplemenjivanju. *Genetika i oplemenjivanje kukuruza – dostignuća i nove mogućnosti*, 11-12. Dec., Institut za kukuruz „Zemun Polje”.
- Radović, G., Jelovac, D. (1995): Identification of the heterotic pattern in Yugoslav maize germplasm. *Maydica*, 40:223-227.
- Rasmusson, D.C., Phillips, R.L. (1997): Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. *Crop Science*, 37:303–310.
- Rayburn, A.L., Dudley, J.W., Biradar, D.P. (1994): Selection for early flowering results in simultaneous selection for reduced nuclear DNA content in maize. *Plant Breed.* 112:318–322.
- Rebourg, C., Gouesnard, B., Charcosset, A. (2001): Large scale molecular analysis of traditional European maize population. Relationships with morphological variation. *Heredity*, 86:574–587.
- Reif, J.C., Melchinger, A.E., Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Vasal, S.K., Beck, D., Bohn, M., Frisch, M. (2003a): Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. *Theor. Appl. Genet.* 107:947-957 184.
- Reif, J.C., Melchinger, A.E., Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Vasal, S.K., Srinivasan, G., Bohn, M., Frisch, M. (2003b): Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. *Crop Science* 43:1275-1282.
- Reif, J.C., Xia, X.C., Melchinger, A.E., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Beck, D., Bohn, M.O., Frisch, M. (2004): Genetic diversity determined within and among CIMMYT maize

- populations of tropical, subtropical, and temperate germplasm by SSR markers. *Crop Sci.* 44(1):326–334.
- Reif, J.C., Hamrit, S., Hechenberger, M., Schipprack, W., Maurer, H.P., Bohn, M., Melchinger, A.E. (2005a): Trends in genetic diversity among European maize cultivars and their parental components during the past 50 years. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(5):838–845.
- Reif, J.C., Hamrit, S., Hechenberger, M., Schipprack, W., Peter Maurer H., Bohn, M., Melchinger, A.E. (2005b): Genetic structure and diversity of European flint maize populations determined with SSR analysis of individual and bulks. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(5):906–913.
- RZS (2019): Republički zavod za statistiku, <http://data.stat.gov.rs/?caller=SDDB>
- Revilla, P., Boyat, A., Alvarez, A., Gouesnard, B., Soengas, P., Ordas, A., Malvar, R.A. (2006): Heterotic patterns among French and Spanish maize populations. *Maydica*, 51:525–535.
- Richey, F.D. (1922): The experimental basis for the present status of corn breeding. *J. Am. Soc. Agron.* 14:1-17.
- Richey, F.D. (1942): Mock-dominance and hybrid vigor. *Science*, 96:280-281.
- Ristić D. (2013): Ispitivanje genetičke varijabilnosti lokalnih populacija kukuruza (*Zea mays* L.) molekularnim markerima. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet.
- Ristić, D., Babić, V., Anđelković, V., Vančetović, J., Mladenović-Drinić, S., Ignjatović-Micić, D. (2013): Genetic diversity in maize dent landraces assessed by morphological and molecular markers. *Genetika*, 45:811–824.
- Röder, M.S., Wendehake, K., Korzun, V., Bredemeijer, G., Laborie, D., Bertrand, L., Isaac, P., Rendell, S., Jackson, J., Cooke, R.J., Vosman, B., Ganal, M.W. (2002): Construction and analysis of a microsatellite-based database of European wheat varieties. *Theor. Appl. Genet.* 106(1): 67-73.
- Rodrigues, M.C., Chaves, L.J. (2002): Heterosis and its components in crosses among high quality protein maize populations. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2:281-290.
- Rohlf, F.J. (2000): NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Version 2.1 (Setaket, New York: Exeter) Owners manuel.
- Rosegrant, M.R., Ringler, C., Sulser, T.B., Ewing, M., Palazzo, A., Zhu, T. (2009): Agriculture and food security under global change: Prospects for 2025/2050 (Washington, D.C.: International Food Policy Research Institute).
- Ruiz de Galarreta, J.I., Álvarez, A. (2010): Breeding potential of early-maturing flint maize germplasm adapted to temperate conditions. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(1): 74-81.
- Sagai Maroof, M.A., Biyashev, R.M., Yang, G.P., Zhang, Q., Allard, R.W. (1994): Extraordinarily polymorphic satellite DNA in barley: species diversity, chromosomal locations, and population dynamics. *Proc. Natl Acad. Sci, USA*, 91:5466-5470.
- Salhuana, W. (1987): Strategies for increasing the use of germplasm. In: Plant Breeding Research Forum; report 1985. Caracas, pp.141-172.
- Salhuana, W., Sevilla, R., Eberhart, S.A. (1997): LAMP (Latin American Maize Project) Final Report. Salhuana, W., Sevilla, R., Eberhart, S.A. (eds), Pioneer Hi-Bred International Spec. Pub. G12083, Johnston, IA.USA.
- Salhuana, W. (1998): Conservation, evaluation and use of maize genetic resources. In: Regeneration of Seed Crops and Their Wild Relatives, Engels, J.M.M., Ramanatha R.R. (eds). Proc. Consultation Meeting, December 4-7, 1995.

- Samayoa, L.F., Malvar, R.A., Moreno-González, J., Ordás, A., Revilla P. (2016): Evaluation of white maize populations for quality and agronomic performance. *Crop Sci.* 56:1173-1178.
- Schgiwietzke, S., Kim, Y., Ximenez, E., Mosier, N., Ladisch, M. (2008): Ethanol production from maize. *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement* (book), part VI:347-364.
- Schmidt, J. (1919): La valeur de l'individu à titre de générateur appréciée suivant la méthode du croisement diallél. *C. R. Trav. Lab. Carlsberg*, 14(6):1-33.
- Schnable, P.S., Ware, D., Fulton, R.S., Stein, J.C., Wei, F., Pasternak, S., Liang, C., Zhang, J., Fulton, L., Graves, T.A. et al. (2009): The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science*, 326(5956):1112–1115.
- Schnell, F.W. (1982): A synoptic study of the methods and categories of plant breeding. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, 89:1-18.
- Schnell, F.W., Cockerham, C.C. (1992): Multiplicative vs. arbitrary gene action in heterosis. *Genetics*, 131:461-469.
- Schwarc, D., Laugner, W.J. (1969): A molecular basis for heterosis. *Science*, 166(3905):626-627.
- Shams, M., Choukan, R., Majidi, E., Darvish, F. (2010): Estimation of combining ability and gene action in maize using line \times tester method under three irrigation regimes. *Journal of Research in Agricultural Science*, 6:19-28.
- Sharma, L., Prasanna, B.M., Ramesh, B. (2010): Analysis of phenotypic and microsatellite-based diversity of maize landraces in India, especially from the North East Himalayan region. *Genetica* (The Hague), 138(6):619–631.
- Shull, G.H. (1908): The composition of a field of maize. *Rept. Am. Breeders Assoc.*, 4:296-301.
- Shull, G.H. (1909): A pure line method in corn breeding. *Rep. Am. Breed. Assoc.* 5:51-59.
- Shull, G.H. (1952): Beginnings of the heterosis concept, In: J.W. Gowen (ed), *Heterosis*. Iowa State College Press/Ames, IA, pp. 14-48.
- Singode, A., Sekhar, J.C., Srinivasan, K., Prasanna, B.M. (2009): Evaluation of yield performance of selected North East Himalayan (NEH) maize landrace accessions of India, outside their habitat. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 69(3):191–198.
- Singode, A., Prasanna, B.M. (2010): Analysis of Genetic Diversity in the North Eastern Himalayan Maize Landraces using Microsatellite Markers. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 19(1):33-41.
- Sinobas, J., Monteagudo I. (1996): Heterotic patterns among U.S. Corn Belt and Spanish maize populations. *Maydica*, 41:143-148.
- Smith, J.S.C., Smith, O.S. (1989): The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II the utility of morphological, biochemical, and genetic descriptors and a scheme for the testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica*, 34:151-161.
- Smith, J.C.S., Duvick, D.N. (1989): Germplasm collections and the private plant breeder. In: Brown, A.D.H., Frankel, O.H., Marshall, D.R., Williams, J.T. (Ed.) *The use of plant genetic resources*. Cambridge: University Press, pp.17-31.
- Smith, D.N., Devey, M.E. (1994): Occurrence and inheritance of microsatellites in *Pinus radiata*. *Genome*, 37(6):977–983.
- Sneath, P.H.A., Sokal, R.R. (1973): *Numerical taxonomy*. Freeman, W.H. and Company, San Francisco.
- Snedecor, G.W., Cochran, W.G. (1967): *One-way classifications. Analysis of variance. Statistical methods*: 258-298.

- Soengas, P., Ordás, B., Malvar, R.A., Revilla, P., Ordás A. (2003): Performance of flint maize in crosses with testers from different heterotic groups. *Maydica*, 48:85–91.
- Soengas, P., Ordás, B., Malvar, R.A., Revilla, P., Ordás, A. (2006): Combining abilities and heterosis for adaptation in flint maize populations. *Crop. Sci.* 46(6):2666–2669.
- Sprague, G.F., Tatum, L.A. (1942): General vs combining ability in single crosses of corn. *J. Amer. Soc. Agron.* 34:923-932.
- Sprague, G.F. (1946): Early testing of inbred lines. *Journal of American Society of Agronomy*, 38:108-117.
- Springer, N.M., Zing, K., Ji, T., Yeh, C-T., Jia, Y., Wu, W., Richmond, T., Kitzman, J., Rosenbaum, H., Iniguez, A.L., Barbazuk, W.B., Jeddeloh, J.A., Nettleton, D., Schnable, P.S. (2009): Maize inbreds exhibit high levels of copy number variation (CNV) and presence/absence variation (PAV) in genome content. *PLoS Genetics* 5:e1000734.
- Srdić, J., Milašinović-Šeremešić, M., Babić, V., Kravić, N., Gošić-Dondo, S. (2019): Evaluation of agronomic and sensory characteristics of sweet corn hybrids. *Selekcija i semenarstvo*, 25(2):17-22.
- Stanković, J. Ralević, N., Ljubojević-Ralević, I. (1989): *Statistika sa primenom u poljoprivredi*. Minerva, Subotica, str. 439.
- Stevanović, M., Mladenović Drinić, S., Stanković, G., Kandić, V., Čamdžija, Z., Grčić, N., Crevar, M. (2012): Analyses of variance and correlation among yield and yield components of maize hybrids and their parental inbred lines. *Proceedings. 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture, Opatija-Croatia*, pp. 327–330.
- Stich, B., Melchinger, A.E., Frisch, M., Maurer, H.P., Heckenberger, M., Reif, J.C. (2005): Linkage disequilibrium in European elite maize germplasm investigated with SSRs. *Theor. Appl. Genet.* 111:723–730.
- Stojaković, M., Jocković, Đ., Ivanović, M., Bekavac, G., Vasić, N., Purar, B., Nastasić, A., Starčević, Lj., Boćanski, J., Latković, D. (2006): Oplemenjivanje kukuruza na prinose i kvalitet. *Zbornik radova Instituta za ratarstvo i povrtarstvo Novi Sad*, 42:41-54.
- Stuber, C.W. (1994): *Proc. 49th Annual Corn and Sorghum Industry Research Conf., American seed trade assoc.*, 49:232.
- Sugiyama, S. (2005): Developmental basis of interspecific differences in leaf size and specific leaf area among C3 grass species. *Funct. Ecol.* 19:916–924.
- Taba, S. (1994): The future: needs and activities. In: Taba, S. (Ed.) *The CIMMYT maize germplasm bank: genetic resource preservation, regeneration, maintenance, and use*. Mexico, pp. 52-59. (Maize Program Special Report).
- Tanksley, S.D. (1983): Molecular markers in plant breeding. *Plant. Mol. Biol. Rep.* 1:3–8.
- Tenaillon, M.I., Manicacci, D., Nicolas, S.D., Tardieu, F., Welcker, C. (2016): Testing the link between genome size and growth rate in maize. *PeerJ* 4:e2408.
- Torney, F., Moeller, L., Scarpa, A., Wang, K. (2007): Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18:193-199.
- Trethowan, R.M., Crossa, J., van Ginkel, M. Rajaram, S. (2001): Relationships among bread wheat international yield testing locations in dry areas. *Crop. Sci.* 41:1461–1469.
- Trifunović, V. (1978): Maize production and maize breeding in Europe. in: Walden D.B. (ur.) *Maize Breeding and Genetics*, New York: Wiley, pp. 41-57.

- Trifunović, V. (1986): Četrdeset godina modern selekcije u Jugoslaviji. Zbornik radova: "Genetika i oplmenjivanje kukuruza - dostignuća i nove mogućnosti", 11. i 12. decembar –Beograd, str. 5-46.
- Troyer, A.F., Rocheford, T.R. (2002): Germplasm ownership: Related corn inbreds. *Crop. Sci.* 42:3-11.
- Troyer, A.T. (2004): Background of U.S. Hybrid Corn II: Breeding, Climate and Food. *Crop Science*; Mar/Apr 2004; 44, 2; Pro Quest Central, pp. 370-380.
- UPOV, TG/2/7 (2009): Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. International Union for the Protection of New Varieties of Plants, Geneva.
- Вавилов, Н.И. (1926): Центры происхождения культурных растений. — Л.: Всес. ин-т прикл. ботан. и нов. культ., 248 с.
- Вавилов, Н.И. (1987): Пять континентов / Отв. ред. д-р биолог. наук Л. Е. Родин; АН СССР. Секция хим.-технологич. и биол. наук. — Л.: Наука, Ленингр. отд-ние, 216 с.
- Van Heerwaarden, J., Hufford, M.B., Ross-Ibarra, J. (2012): Historical genomics of North American maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(31):12420-12425.
- Van Inghelandt, D., Melchinger, A.E., Lebreton, C., Stich, B. (2010): Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theor. Appl. Genet.* 120:1289–1299.
- Vančetović, J., Mladenović Drinić, S., Babić, M., Ignjatović-Micić D., Anđelković V. (2010): Maize genebank collections as potentially valuable breeding material. *Genetika*, 42(1):9-21.
- Vančetović, J., Ignjatović-Micić, D., Božinović, S., Babić, M., Filipović, M., Grčić, N., Anđelković, V. (2014): Grain quality of drought tolerant accessions within the MRI Zemun Polje maize germplasm collection. *Span. J. Agric. Res.* 12(1):186-194.
- Vančetović, J., Ignjatović-Micić, D., Božinović, S., Delić, N. (2015a): Maize core collection for increased grain quality. *Maydica*, 60(4):1–10.
- Vančetović, J., Božinović, S., Ignjatović-Micić, D., Delić, N., Kravić, N., Nikolić, A. (2015b): A diallel cross among drought tolerant maize populations. *Euphytica*, 205(1):1–16.
- Vielle-Calzada, J-P., Martinez de la Vega, O., Hernández-Guzmán, G., et al. (2010): The Palomero genome suggests metal effects on maize domestication. *Science*, 326:1078.
- Vigouroux, Y., Jaqueth, J.S., Matsuoka, Y., Smith, O.S., Beavis, W.D. (2002): Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. *Mol. Biol. Evol.* 19:1251–1260.
- Virmani, S.S. (1994): Heterosis and hybrid rice breeding. Springer – Verlag, Berlin 13:189.
- Vosman, B., Arens, P., Rus-Kortekaas, W., Smulders, M.J. (1992): Identification of highly polymorphic DNA regions in tomato. *Theor. Appl. Genet.* 85(2-3):239-244.
- Wang, H., Nussbaum-Wagler, T., Li, B., Zhao, Q., Vigouroux, Y., Faller, M., Bomblied, K., Lukens, L., Doebley, J.F. (2005): The origin of the naked grains of maize. *Nature*, 436:714-719.
- Warburton, M.L., Ianchun, X.X., Rossa, J.C., Franco, J., Melchinger, A.E., Frisch, M., Bohn, M., Hoisington, D. (2002): Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open-pollinated populations using large-scale fingerprinting methods. *Crop Sci.* 42:1822-1840.
- Warburton, M.L., Reif, J.C., Frisch, M., Bohn, M., Bedoya, C., Xia, X.C., Crossa, J., Franco, J., Hoisington, D., Pixley, K., Taba S., Melchinger, A.E. (2008): Genetic diversity in CIMMYT nontemperate maize germplasm: landraces, open pollinated varieties, and inbred lines. *Crop. Sci.* 48:617-624.

- Warburton, M., Setimela, P., Franco, J., Cordova, H., Pixley, K., Bänziger, M., Dreisigacker S., Claudia Bedoya, C., MacRobert, J. (2010): Towards a cost-effective fingerprinting methodology to distinguish maize open pollinated varieties. *Crop Sci.* 50:467–477.
- Wasala, S.K., Guleria, S.K., Sekhar, J.C., Mahajan, V., Srinivasan, K., Parsad, R., Prasanna, B.M. (2013): Analysis of yield performance and genotype \times environment effects on selected maize (*Zea mays*) landrace accessions of India. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 83: 287–293.
- Wei, F., Coe, E., Nelson, W., Bharti, A.K., Engler, F., Butler, E., Kim, H., Goicoechea, J.L., Chen, M., Lee, S., Fuks, G., Sanchez-Villeda, H., Schroeder, S., Fang, Z., McMullen, M., Davis, G., Bowers, J.E., Paterson, A.H., Schaeffer, M., Gardiner, J., Cone, K., Messing, J., Soderlund, C., Wing, R.A. (2007): Physical and genetic structure of the maize genome reflects its complex evolutionary history. *PLoS Genetics*; 3(7):e123.
- Wei, K., Zhang, H., Xu, X., Du, H., Huang, Y., Zhang, Z. (2009): Evaluation of phenotype and genetic diversity of maize landraces from Hubei province, South West China. *Frontier Agriculture China*, 3(4):374–382.
- Wen, W., Franco, J., Chavez-Tovar, V.H., Yan, J., Taba, S. (2012): Genetic characterization of a core set of a tropical maize race Tuxpeño for further use in maize improvement. *PLoS One*, (3):e32626.
- Whitelaw, C.A., Barbazuk, W.B., Perteua, G., Chan, A.P., Cheung, F., Lee, Y., Zheng, L., van Heeringen, S., Karamycheva, S., Bennetzen, J.L., SanMiguel, P., Lakey, N., Bedell, J., Yuan, Y., Budiman, M.A., Resnick, A., Van Aken, S., Utterback, T., Riedmuller, S., Williams, M., Feldblyum, T., Schubert, K., Beachy, R., Fraser, C.M., Quackenbush, J. (2003): Enrichment of gene-coding sequences in maize by genome filtration. *Science*, 302(5653):2118–2120.
- Wilde, K., Burger, H., Prigge, V., Presterl, T., Schmidt, W., Ouzunova, M., Geiger, H.H. (2010): Testcross performance of doubled-haploid lines developed from European flint maize landraces. *Plant Breeding*, 129(2):181–185.
- Wilkes, G. (1984): Germplasm conservation toward the year 2000: Potential for New Crops and Enhancement of Present Crops. In: "Plant Genetic Resources – A Conservation Imperative". Christopher W. Yeatman, David Kafton, and Garrison Wilkes ed.: American Association for the Advancement of Science.
- Winkel-Shirley, B. (2001): Flavonoid biosynthesis. A color model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. *Plant Physiol.* 126(2):485–493.
- Worku, M., Makumbi, D., Beyene, Y., Das, B., Mugo, S., Pixley, K., Bänziger, M., Owino, F., Olsen, M., Asea, G., Prasanna, B.M. (2016): Grain yield performance and flowering synchrony of CIMMYT's tropical maize (*Zea mays* L.) parental inbred lines and single crosses. *Euphytica*, 211(3):395-409.
- Yue, G.L, Roozeboom, K.L., Schapaugh Jr.W.T., Liang, G.H. (1997): Evaluation of soybean cultivars using parametric and nonparametric stability estimates. *Plant Breed.* 116:271-275.
- Zhu, Y., Chen, H., Fan, J., Wang, Y., Li, Y., Chen, J., Fan, J., Yang, S., Hu, L., Leung, H., Mew, T.W., Teng, P.S., Wang, Z., Mundt, C.C. (2002): Genetic diversity and disease control in rice. *Nature*, 406:718–722.
- Zhu, Y., Wang, Y., Chen, H., Lu, B. (2003): Conserving traditional rice varieties through management for crop diversity. *Bioscience*, 53:158–162.
- Živanović, T., Branković, G., Radanović, S. (2010): Combining abilities of maize inbred lines for grain yield and yield components. *Genetika*, 42(3):565-574.

BIOGRAFIJA

Aleksandar Popović (31) je rođen 25.01.1989. godine u Beogradu (Savski venac), Republika Srbija, od oca Slobodana i majke Mirjane (rođ. Milošević). Osnovnu školu „Ilija Birčanin” završio je u Zemun Polju. Po završetku Sedme beogradske gimnazije, 2008. godine upisuje osnovne akademske studije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, gde studira modul Biljna proizvodnja na Odseku za ratarstvo i povrtarstvo. Povodom Dana fakulteta, 28.03.2012. godine, pohvaljen je kao najbolji student četvrte godine. Diplomirao je 18.09.2012. godine sa prosečnom ocenom 9,17. Diplomski rad pod naslovom „Uloga i značaj citoplazmatične muške sterilnosti u oplemenjivanju biljaka i primena kod kukuruza“ odbranio je sa ocenom 10 (deset). Na istom fakultetu, školske 2012/2013. godine upisuje master akademske studije na programu Poljoprivreda, modul Ratarstvo i povrtarstvo. Na dan 30.09.2013. godine odbranio je master rad pod naslovom „Evaluacija lokalnih populacija kukuruza povećane tolerantnosti na sušu”, sa ocenom 10 (deset). Realizaciji master rada doprineo je projekat ref: 332160 UØ, pod nazivom „Prilagođavanja u poljoprivredi na klimatske promene - saradnja, obrazovanje, istraživanje i savetodavstvo na Zapadnom Balkanu”, kao deo Norveškog Programa u Visokom Obrazovanju, Istraživanju i Razvoju (HERD) na Zapadnom Balkanu: HERD/Poljoprivreda”, vođa projekta: Prof. dr Bishal Sitaula i mentor Prof. dr Slaven Prodanović.



U školskoj 2013/2014. godini upisao je prvu godinu doktorskih studija na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, program Poljoprivredne nauke, modul Ratarstvo i povrtarstvo. Doktorant Aleksandar Popović je u okviru doktorskih studija položio sve ispite predviđene studijskim programom (8), sa prosečnom ocenom 9,63 i stekao ukupno 150 ESPB.

Od 2013. godine radi u Institutu za kukuruz „Zemun Polje”. Obavljao je poslove mlađeg referenta za proizvodnju osnovnog semena u Odeljenju za osnovno seme, a trenutno radi kao referent za proizvodnju i kontrolu komercijalnog semena u Odeljenju za komercijalno seme. U tom periodu, Aleksandar Popović se aktivno bavio i naučnoistraživačkim poslovima, te ga je Komisija za ocenu aktivnosti i naučnog rada izabrala 13.11.2015. godine u zvanje istraživač pripravnik, a zatim 06.12.2016. godine i u zvanje istraživač saradnik.

Na osnovu rešenja Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede, broj: 119-01-284/2013-09 od 07.05.2013. godine učestvovao je u radnoj grupi za izradu Strategije poljoprivrede i ruralnog razvoja za period 2014-2024. u oblasti kreiranja i transfera znanja i tehnologija. Bio je član sekretarijata VIII naučno-stručnog skupa Društva selekcionera i semenara Republike Srbije, održanog u Privrednoj komori Srbije, 2015. godine. Angažovan je na projektu „Genetički resursi kukuruza kao izvor poboljšanog kvaliteta zrna i tolerantnosti prema suši”, pod pokroviteljstvom Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (TR 31028). Kandidat je do sada objavio 23 naučna rada. Autor je hibrida ZP6715 od 10.02.2020. godine, broj: 320-04-1563/2/2018-11. Govori i piše ruski jezik, a služi se engleskim jezikom. Oženjen je i otac je jednog deteta.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Aleksandar Popović

Broj indeksa: RA13/0001

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

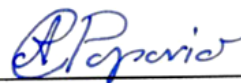
**Procena oplemenjivačke vrednosti i molekularna karakterizacija lokalnih populacija
kukuruza Zapadnog Balkana**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, _____

Potpis autora

Aleksandar S. Popović



Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Aleksandar Popović

Broj indeksa: RA13/0001

Studijski program: POLJOPRIVREDNE NAUKE - RATARSTVO I POVRTARSTVO

Naslov rada: Procena oplemenjivačke vrednosti i molekularna karakterizacija lokalnih
populacija kukuruza Zapadnog Balkana

Mentori: prof. dr Slaven Prodanović, redovni profesor
dr Vojka Babić, viši naučni saradnik

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, _____

Potpis autora

Aleksandar S. Popović



Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

**Procena oplemenjivačke vrednosti i molekularna karakterizacija lokalnih populacija
kukuruza Zapadnog Balkana**

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu, _____

Potpis autora

Aleksandar S. Popović



1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.

2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.

4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.

5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.

6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.