

UNIVERZITET U BEOGRADU  
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Natalija B. Kravić

**ANALIZA GENETIČKE VARIJABILNOSTI  
KUKURUZA NA TOLERANTNOST  
PREMA SUŠI**

doktorska disertacija

Beograd, 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF AGRICULTURE

Natalija B. Kravić

**ANALYSIS OF GENETIC VARIABILITY  
AMONG MAIZE GENOTYPES  
TO DROUGHT TOLERANCE**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2013.

**Mentor: dr Gordana Šurlan Momirović**, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

**Članovi komisije za ocenu doktorske disertacije:**

1. **dr Slaven Prodanović**, redovni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet
2. **dr Violeta Anđelković**, viši naučni saradnik,  
Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun
3. **dr Mirjana Vuletić**, naučni savetnik,  
Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd-Zemun
4. **dr Lada Živković**, docent  
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet

**Datum odbrane:** \_\_\_\_\_

Čini mi posebno zadovoljstvo da izrazim zahvalnost Institutu za kukuruz "Zemun Polje", koji mi je omogućio izradu ove doktorske disertacije.

Svom mentoru u Institutu za kukuruz „Zemun Polje“ dr Violeti Anđelković i rukovodiocu projekta MNTR TR 20014 „Identifikacija izvora tolerantnosti prema suši u gen banci kukuruza“, u okviru koga je započeta izrada ove doktorske disertacije, želim da izrazim veliku zahvalnost na ukazanim sugestijama, korisnim savetima, usmeravanjima, i izuzetnoj brzini u rešavanju svih problema, koja su mi pomogla i omogućila da se izrada doktorske disertacije dovede do kraja.

Dr Gordani Šurlan Momirović se iskreno zahvaljujem na pokazanoj izuzetnoj profesionalnosti i pristupačnosti u rešavanju svih pitanja u vezi sa izradom doktorske disertacije.

Dr Jeleni Vančetović dugujem iskrenu zahvalnost na ideji i osmišljavanju eksperimentalnog dela istraživanja u vezi sa poljskim ogledima u Egiptu, Zemun Polju i Skoplju.

S posebnim zadovoljstvom se zahvaljujem dr Mirjani Vuletić i dr Vesni Hadži-Tašković Šukalović na pomoći pri izradi eksperimentalnog dela disertacije u laboratoriji za fiziologiju, korisnim savetima i usmeravanju u naučno-istraživačkom radu.

Veliko hvala dr Kseniji Marković, rukovodiocu eksperimentalnog dela koji se odnosi na detekciju POD izoformi pomoću izoelektričnog fokusiranja, na direktnoj pomoći u eksperimentalnom radu.

Hvala dr Ani Nikolić i Danijeli Ristić, istraživaču saradniku na pomoći u eksperimentalnom radu dela doktorske disertacije u laboratoriji za biotehnologiju.

Zahvaljujem se dr Dragani Ignjatović-Mićić na svesrdnoj pomoći pri tumačenju rezultata eksperimentalnog dela disertacije radenog u laboratoriji za biotehnologiju.

Dr Vojki Babić se zahvaljujem na pomoći prilikom statističke obrade rezultata i korisnom usmeravanju prilikom njihove interpretacije.

Zahvaljujem se kolegama iz Grupe za kolekciju i introdukciju, na pomoći pri realizaciji eksperimentalnog dela disertacije u vezi sa poljskim ogledima.

Svojoj dragoj porodici neizmerno zahvaljujem na beskrajnoj ljubavi i nesebičnoj podršci.

## ANALIZA GENETIČKE VARIJABILNOSTI KUKURUZA NA TOLERANTNOST PREMA SUŠI

### SAŽETAK

Suša je glavni abiotički faktor, koji značajno utiče na smanjenje i kvalitet konačnog prinosa zrna kod kukuruza. S obzirom na predviđanja globalnih klimatskih promena za 21. vek, u pravcu povećanja temperature vazduha, veće evapotranspiracije i učestalije pojave suše, poboljšana sposobnost kukuruza da izdrži nepovoljne uslove spoljašnje sredine je esencijalna i zahteva multidisciplinarni pristup u proučavanju osobina koje doprinose njegovoj povećanoj tolerantnosti prema stresu suše.

Za potrebe savremene selekcije kukuruza za različite osobine (npr. tolerantnost prema suši), materijal koji se čuva u banci gena Instituta za kukuruz "Zemun Polje", po svom obimu (5806 genotipova) i ogromnoj genetičkoj varijabilnosti, pruža velike mogućnosti. Testiranje celokupnog genofonda na tolerantnost prema suši je izvršeno u uslovima kontrolisane suše u Egiptu, kao i u uslovima umerenog vodnog deficita u Zemun Polju i Skoplju, grupisanjem genotipova po dužini vegetacije (po grupama zrenja), kako bi svi bili izloženi stresu suše u približno istoj fazi vegetacionog perioda. Identifikacija i odabir genotipova su vršeni praćenjem sekundarnih osobina relevantnih za stres suše (ASI-a - *anthesis silking interval*, jalovosti biljke, ozrnjenosti klipa, nalivenosti zrna i osobine *stay green*-a), na sva tri lokaliteta, i merenjem prinosa zrna / biljci u uslovima umerenog vodnog deficita.

Pored dobrih *per se* performansi u poljskim uslovima, za odabir genotipova najtolerantnijih prema stresu suše, kao budućih komponenti hibrida, bila je neophodna informacija o pripadnosti genotipova odgovarajućim heterotičnim grupama na osnovu ukrštanja sa korišćenim inbred testerima, poreklom iz tri heterotične grupe - *BSSS*, *Lancaster* i nezavisne, kao i informacija o opštoj kombinacionoj sposobnosti ukrštanja genotipova sa odabranim inbred testerima. Od izuzetnog značaja je bilo izdvajanje 6 genotipova kukuruza, koji su se dobro kombinovali sa sva tri korišćena heterotična izvora, čineći potencijalno nov, sasvim različit izvor poželjne germplazme. Na osnovu dobijenih rezultata, formirana je *core* kolekcija za tolerantnost prema suši, koju čine 13 domaćih populacija, 13 introdukovanih populacija i 15 introdukovanih inbred linija kukuruza.

Kod svih genotipova, povećana tolerantnost na stres suše u fazi cvetanja, praćena je malim ASI-jem (do 2,69 dana), niskom jalovošću biljke (do 13,16%), visokom ozrnjenošću klipa (do 93,08%) i dobrom nalivenošću zrna (do 95,38%), dok se *stay green* najviše ispoljio u uslovima izrazitog vodnog deficita. Prinos zrna / biljci za sve genotipove je bio viši u Zemun Polju u odnosu na Skoplje.

SSR molekularna karakterizacija je utvrdila visok stepen genetičkog diverziteta unutar svake ispitivane grupe genotipova kukuruza (genetička sličnost domaćih populacija je iznosila 0,31, introdukovanih populacija 0,54 i introdukovanih inbred linija 0,37) i potvrdila grupisanje genotipova u odgovarajuće heterotične grupe, na osnovu njihove kombinacione sposobnosti sa korišćenim inbred testerima.

Ispitivana morfo-fiziološka i biohemijska osnova tolerantnosti na sušu u ranoj fazi razvića kukuruza u uslovima simuliranog osmotskog stresa, potvrdila je postojanje varijabilnosti između genotipova, ispoljene u uslovima stresa suše u polju. Kod svih genotipova je došlo do smanjenja parametara rasta (dužine i sveže mase korena i nadzemnog dela), kao i povećanja odnosa koren - nadzemni deo za posmatrane parametre. Efekat osmotskog stresa na sadržaj prolina je bio mnogo izraženiji u korenu, dovodeći do prosečnog povećanja njegove akumulacije i do 59,2%. Utvrđene su statistički visoko značajne korelacije između promene sadržaja prolina i promene dužine, sveže i suve mase korena i lista. Povećane POD aktivnosti u uslovima osmotskog stresa, kao i povećanje intenziteta anjonskih POD izoformi u tretmanu, su ukazale na povećanu tolerantnost genotipova na uticaj osmotskog stresa. Utvrđene su statistički značajne korelacije između specifične POD aktivnosti i promene sadržaja prolina ( $r = -0,610^*$ ), odnosno promene sveže mase korena ( $r = 0,572^*$ ). Utvrđena je značajna pozitivna korelacija prinosa zrna / biljci u polju sa promenom sadržaja prolina u korenu klijanaca ( $r = 0,519^*$ ), kao i visoko značajna negativna korelacija sa promenom dužine korena klijanaca ( $r = -0,658^{**}$ ).

**Ključne reči:** banka gena, genetička divergentnost, jezgrovna kolekcija, kukuruz, osmotski stres, prolin, SSR (*Simple Sequence Repeat*) markeri, suša

**Naučna oblast:** BIOTEHNIČKE NAUKE

**Uža naučna oblast:** RATARSTVO I POVRTARSTVO

**UDK broj:** 633.15:575.22:632.112(043.3)

## ANALYSIS OF GENETIC VARIABILITY AMONG MAIZE GENOTYPES TO DROUGHT TOLERANCE

### ABSTRACT

Drought is a major abiotic factor, which significantly decreases final grain yield and its quality in maize. Predictions of global climate changes for 21<sup>st</sup> century, towards higher air temperatures, greater evapotranspiration and more frequent occurrence of drought, emphasize the importance for improved maize ability to withstand adverse environmental conditions, and the necessity of employing the multidisciplinary approach for studying the characteristics that contribute to its increased drought tolerance.

The material maintained within The MRI “Zemun Polje” gene bank, considering its size (5806 genotypes) and huge genetic variability of the accessions, offers the great opportunity for modern maize breeding for different purposes (e.g. drought tolerance). Field testing for drought tolerance was performed on the entire MRI gene bank collection, subjected to controlled drought in Egypt, as well as to conditions of moderate water deficit in Zemun Polje and Skopje. In order to expose them to drought stress at approximately the same vegetative stage, grouping the accessions into different maturity groups (according to the duration of their vegetative period), was necessary. Identification and selection of the most drought tolerant genotypes was performed by visual scoring of drought related secondary traits (*ASI - anthesis silking interval*, barrenness, seed set, grain filling and stay-green) at each location, and by measuring yield / plant under moderate water deficit conditions.

Besides good performances *per se* in field, the information on combining ability of selected material, in order to classify it into heterotic groups, was necessary to form the core. Therefore, the most drought tolerant genotypes were crossed to three inbred testers from heterotic groups that mutually combined well (*BSSS*, *Lancaster* and independent source). It is very important that 6 genotypes had a good combining ability with all three observed heterotic sources, making them a new, completely different source of favourable germplasm. Obtained results revealed the formation of core collection for drought tolerance, comprising 13 local populations, 13 introduced populations and 15 introduced maize inbred lines.

Increased tolerance to drought of all genotypes at flowering, was followed by a small ASI (up to 2,69 days), lower barrenness rate (up to 13,16%), higher seed set rate (up to 93,08%), as well as higher grain filling rate (up to 95,38% ), while the trait of stay green was the most pronounced under extreme water deficit conditions. Grain yield / plant of all genotypes was higher in Zemun Polje in relation to Skopje.

SSR molecular characterization has revealed a high level of genetic diversity within each group of maize genotypes (genetic similarity of local populations was 0,31, of introduced populations was 0,54 and of introduced inbreds was 0,37) and confirmed genotypes assignment to heterotic groups, based upon their combining ability with used inbred testers.

Investigation of morpho-physiological and biochemical basis of drought tolerance at early maize seedling stage under applied osmotic stress, confirmed the existence of variability among the genotypes, as exhibited in the field. In all genotypes, osmotic stress caused the reduction in growth parameters (length and fresh weight of both roots and shoots), as well as increased root to shoot ratio of the observed parameters. The effect of osmotic stress on proline content was much more pronounced in the roots, leading to average increase in its accumulation up to 59,2%. Statistically highly significant correlations between changes in proline content and changes in all observed growth parameters of roots and shoots were detected. Increased POD activities under osmotic stress, as well as increased anionic POD isoforms in treatment, indicated the existence of increased tolerance to osmotic stress. Significant correlations were found between specific POD activity and proline content changes ( $r = -0,610 *$ ), ie. changes in root fresh weight ( $r = 0,572*$ ). Significant positive correlation was found between grain yield / plant in the field and change of proline content in seedlings roots ( $r = 0,519*$ ), as well as a highly significant negative correlation between grain yield / plant and the change of seedling root length ( $r = -0,658 **$ ).

**Key words:** core collection, drought, gene bank, genetic diversity, maize, osmotic stress, proline, SSR (*Simple Sequence Repeat*) markers

**Scientific field:** BIOTECHNICAL SCIENCES

**Special topic:** FIELD AND VEGETABLE CROPS

**UDK number:** 633.15:575.22:632.112(043.3)



# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	3
3. PREGLED LITERATURE .....	4
3.1 Značaj kukuruza.....	4
3.2 Poreklo kukuruza.....	4
3.3 Širenje kukuruza iz centara porekla .....	6
3.4 Čuvanje genetičke varijabilnosti kukuruza.....	7
3.5 Korišćenje genetičkih resursa kukuruza i koncept <i>pre-breeding-a</i> .....	7
3.6 Klimatske promene .....	9
3.7 Stres suše .....	10
3.8 Mehanizmi tolerantnosti prema suši .....	12
3.9 Stres suše kod kukuruza i mehanizmi tolerantnosti .....	15
3.10 Molekularno-genetički pristupi u ispitivanju tolerantnosti na sušu .....	19
3.10.1 Genetički markeri.....	20
3.10.2 Molekularni markeri.....	20
3.10.3 PCR molekularni markeri.....	21
4. RADNA HIPOTEZA.....	23
5. MATERIJAL I METODE.....	24
5.1 Biljni materijal .....	24
5.2 Poljski ogledi.....	24
5.2.1 Poljski ogledi u 2007. godini.....	24
5.2.2 Poljski ogledi u 2008. godini.....	25
5.2.3 Poljski ogledi u 2009. i 2010. godini .....	26
5.3 Ogledi simuliranog stresa suše u kontrolisanim laboratorijskim uslovima.....	27
5.3.1 Biljni materijal .....	27
5.3.2 Gajenje biljaka u laboratorijskim uslovima .....	30
5.3.3 Morfološki parametri .....	31
5.3.3.1 Merenje dužine, sveže i suve mase korena i lista kukuruza .....	31
5.3.4 Fiziološko-biohemijski parametri .....	31
5.3.4.1 Određivanje sadržaja slobodnog prolina u korenu i listu kukuruza.....	31
5.3.4.2 Određivanje aktivnosti peroksidaza u korenu klijanaca kukuruza.....	33
5.3.4.3 Određivanje sadržaja rastvorljivih proteina u korenu klijanaca kukuruza.....	34
5.3.5 Izoelektrično fokusiranje (IEF) za određivanje POD izoformi u korenu klijanaca kukuruza .....	35
5.3.5.1 Vizuelizacija peroksidaznih izoformi na gelu za IEF.....	35
5.4 Karakterizacija genotipova kukuruza SSR molekularnim markerima .....	36
5.4.1 Izolacija DNK.....	36
5.4.2 Određivanje koncentracije i kvaliteta DNK .....	37
5.4.3 SSR - PCR reakcija .....	38
5.4.4 Poliakrilamidna elektroforeza (PAGE).....	39
5.5 Statistička analiza .....	40
5.5.1 Statistička analiza poljskih ogleda.....	40
5.5.2 Statistička analiza morfoloških i fiziološko-biohemijskih parametara .....	40
5.5.3 Analiza glavnih komponenti ( <i>Principal Component Analysis - PCA</i> ) .....	41
5.5.4 Genetička sličnost .....	41

5.5.4.1 Klaster analiza .....	41
5.5.4.2 Korespondenciona analiza .....	41
6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	42
6.1 Klimatske prilike u 2008. godini .....	42
6.2 Prosečne vrednosti i pokazatelji varijabilnosti.....	44
6.2.1 Domaće populacije kukuruza .....	44
6.2.1.1 Sekundarne osobine.....	44
6.2.1.2 Prinos i komponente prinosa .....	45
6.2.2 Introdikovane populacije kukuruza .....	50
6.2.2.1 Sekundarne osobine.....	50
6.2.2.2 Prinos i komponente prinosa .....	51
6.2.3 Introdikovane inbred linije kukuruza .....	55
6.2.3.1 Sekundarne osobine.....	55
6.2.3.2 Prinos i komponente prinosa .....	56
6.3 Određivanje pripadnosti različitim heterotičnim grupama kukuruza.....	60
6.4 Odgovor biljke kukuruza na simulirani stres suše .....	62
6.4.1 Prosečne vrednosti ispitivanih fizioloških i biohemijskih parametara .....	63
6.4.1.1 Domaće populacije kukuruza .....	63
6.4.1.2 Introdikovane populacije kukuruza .....	70
6.4.1.3 Introdikovane inbred linije kukuruza .....	77
6.5 Izoelektrično fokusiranje (IEF).....	84
6.6 Korelaciona analiza .....	86
6.6.1 Korelaciona analiza fiziološko-biohemijskih parametara.....	86
6.6.1.1 Domaće populacije kukuruza .....	86
6.6.1.2 Introdikovane populacije kukuruza .....	87
6.6.1.3 Introdikovane inbred linije kukuruza .....	87
6.6.2 Korelaciona analiza fiziološko-biohemijskih parametara i prinosa kukuruza u polju ....	92
6.6.2.1 Domaće populacije kukuruza .....	92
6.6.2.2 Introdikovane populacije kukuruza .....	92
6.6.2.3 Introdikovane populacije kukuruza .....	92
6.7 Analiza glavnih komponenti ( <i>Principal Component Analysis</i> - PCA).....	96
6.7.1. PCA fizioloških parametara .....	96
6.7.2. PCA biohemijskih parametara.....	98
6.8 Genetička karakterizacija <i>core</i> kolekcije kukuruza za tolerantnost prema suši.....	100
6.8.1 Genetička sličnost na osnovu SSR analize kukuruza .....	102
6.8.2 Klaster analiza .....	106
6.8.2.1 Klaster analiza domaćih populacija kukuruza .....	106
6.8.2.2 Klaster analiza introdikovanih populacija kukuruza .....	107
6.8.2.3 Klaster analiza introdikovanih inbred linija kukuruza .....	108
6.8.3 Korespondenciona analiza .....	109
6.8.3.1 Korespondenciona analiza domaćih populacija kukuruza .....	109
6.8.3.2 Korespondenciona analiza introdikovanih populacija kukuruza .....	110
6.8.3.3 Korespondenciona analiza introdikovanih inbred linija kukuruza.....	111
7. DISKUSIJA .....	112
8. ZAKLJUČCI.....	138
9. LITERATURA.....	141
BIOGRAFIJA .....	171

## 1. UVOD

Globalne klimatske promene su, generalno, već u toku i ukazuju na dugoročan trend pojave viših temperatura, veće evapotranspiracije i učestalije pojave suše u određenim regionima (Hillel i Rosenzweig, 2002). Ovi trendovi, zajedno sa širenjem poljoprivredne proizvodnje u marginalnim područjima, dovode do porasta broja aridnih agro-ekoloških sistema. Predviđanja globalnih klimatskih promena ukazuju da će se zagrevanje atmosfere nastaviti u 21. veku, a projektovane srednje temperature vazduha bile bi krajem ovog veka za 1,4°C do 5,8°C veće u odnosu na sadašnje vrednosti, pri čemu bi projektovana brzina promene temperature u ovom stoleću od 0,3°C po deceniji bila najveća od bilo koje brzine promena temperature vazduha u poslednjih 10 000 godina uslovljene prirodnim faktorima (Allan i Soden, 2008).

Prema prvim procenama regionalnih klimatskih promena, u regionu Južne Evrope (kome pripada i Srbija), se, pored trenda rasta temperature vazduha i isparavanja, očekuje smanjenje padavina u toploj polovini godine, smanjenje vlažnosti zemljišta i uopšte količine raspoložive vode (Gualdi i sar., 2008; Popović, 2007). Očekuju se i učestalije pojave klimatskih ekstrema (olujne nepogode praćene poplavama, suše, ekstremno visoke temperature vazduha, toplotni talasi i dr.), pa se zbog nepovoljnog uticaja na proizvodnju hrane, energije, vodosnabdevanje, ljudsko zdravlje i biološku raznovrsnost, region Južne Evrope svrstava u regione veoma ugrožene klimatskim promenama (Dodig i sar., 2002).

Suša kao glavni abiotički faktor, predstavlja permanentno i značajno visok deficit vode za potrebe biljaka u jednom poljoprivrednom ili šumskom području, koji u kombinaciji sa visokim temperaturama vazduha deluje nepovoljno na rast i razviće biljaka i u znatnoj meri smanjuje i pogoršava kvalitet prinosa (Shao i sar., 2008). Stoga je nesporna potreba da se deo oplemenjivačkih programa usmeri u pravcu povećanja tolerantnosti prema ovom stresnom faktoru (Ribaut, 2006).

Tolerantnost na sušu je vrlo složena kvantitativna osobina, koja je po svom načinu nasleđivanja poligena i vezana je za veliki broj fizioloških i morfoloških osobina (Campos i sar., 2004). U vezi sa tolerantnošću na sušu, vršena su intenzivna istraživanja u oblasti agronomije i oplemenjivanja, fiziologije, kao i u oblasti biotehnologije. Značajan napredak u povećanju prinosa u uslovima suše je ostvaren kroz

konvencionalno oplemenjivanje, ali je to dugotrajan proces koji zahteva strogo kontrolisane uslove u polju. Pri tom dolazi do smanjenja heritabilnosti komponenti prinosa usled povećanog stresa (Ribaut i sar., 1997), kao i do smanjenja genetičke varijabilnosti koja se povremeno mora introdukovati iz poželjnih izvora.

Kukuruz je biljka koja se po rasprostranjenosti i upotrebi nalazi na trećem mestu u svetu, iza pšenice i pirinča, kod koje suša izaziva drastično smanjenje prinosa zrna. Za uspešnu selekciju na povećanu tolerantnost kukuruza prema suši, neophodno je pronaći poželjne genotipove sa tom osobinom. Pri tome je važno da korišćeni izvori poseduju visok stepen ekspresije tražene osobine, ali i da se odlikuju što višim stepenom adaptiranosti na lokalne uslove gajenja. Kolekcija domaćih i introdukovanih genotipova kukuruza, kao izvora poželjnih osobina, iz banke gena Instituta za kukuruz “Zemun Polje”, po svom obimu i sadržaju, pruža velike mogućnosti za potrebe komercijalnog oplemenjivanja kukuruza sa povećanom tolerantnošću prema stresu suše.

Dok banke gena pokušavaju da sačuvaju što je moguće više genetičke varijabilnosti koja bi bila na raspolaganju selekcionerima, oplemenjivački programi ne koriste efikasno raspoloživ diverzitet, oslanjajući se, skoro isključivo, na svoje radne kolekcije. Prebridging (*pre-breeding*) je koncept koji predstavlja najbolju vezu između genetičkih izvora i oplemenjivačkih programa. Obuhvata sve aktivnosti u cilju identifikacije poželjnih karakteristika i / ili gena iz neadaptiranog (egzotičnog ili poluegzotičnog) materija, uključujući i adaptirani materijal, koji će biti pod nekim selekcionim pritiskom (Nass i Paterniani, 2000). Rezultati prebridging programa su stvaranje novih osnovnih populacija za potrebe oplemenjivanja, koje pomažu u identifikaciji heterotičnih grupa (one su odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju postizanja što boljih performansi hibrida dobijenih u različitim ukrštanjima populacija) i formiranje tzv. jezgrovnih (*core*) kolekcija, koje predstavljaju genetički diverzitet određene vrste i njenih srodnika, sa minimumom ponovljivosti (Teixeira i sar., 2010).

Proučavanje konstitutivnih i adaptivnih osobina koje doprinose tolerantnosti kukuruza na sušu zahteva multidisciplinarni pristup, a ogleda se u integrisanoj primeni metoda klasične selekcije, morfoloških i fiziološko-biohemijskih metoda, kao i metoda molekularne genetike.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su bili:

- grupisanje genotipova kukuruza na osnovu pripadnosti FAO grupama zrenja (prema dužini vegetacionog perioda)
- formiranje manjih kolekcija kukuruza na osnovu testiranja u uslovima vodnog deficita i visoke temperature vazduha
- određivanje pripadnosti različitim heterotičnim grupama na osnovu testiranja kombinacione sposobnosti
- ispitivanje reakcije odabranih genotipova u ranoj fazi razvića na simulirani stres suše u laboratorijskim uslovima
- detaljnija karakterizacija odabranih genotipova unutar novoformirane jezgrove kolekcije za tolerantnost prema suši primenom SSR (*Simple Sequence Repeat*) molekularnih markera

### 3. PREGLED LITERATURE

#### 3.1 Značaj kukuruza

Pšenica, pirinač i kukuruz su tri najvažnije žitarice u svetu. Kukuruz se trenutno proizvodi na skoro 100 miliona hektara u 125 zemalja u razvoju, od kojih je u 75 najzastupljenija gajena biljna vrsta (FAOSTAT, 2010). Iako je veći deo (oko 78%) svetske proizvodnje, sa preko 800 miliona tona godišnje, usmeren na proizvodnju stočne hrane, potreba za korišćenjem kukuruza u ljudskoj ishrani se stalno povećava (sub-saharski deo Afrike i Latinska Amerika), sa procenjenom godišnjom stopom rasta od 1,3% do 2020-te godine (Ortiz et al., 2010). Globalna predviđanja takođe ukazuju da će do 2025-te godine kukuruz postati usev sa najvećom proizvodnjom, kao i da će se u zemljama u razvoju do 2050-te potreba za njim udvostručiti (Rosegrant et al 2008).

Dominacija i superiorni položaj kukuruza uslovljeni su prevashodno izuzetno širokim, veoma raznovrsnim i ogromnim mogućnostima njegove upotrebe. Od kukuruza se dobija brašno, griz, skrob, ulje i sirup, dok se procesima fermentacije i destilacije dobija alkohol i viski. Čest je sastavni deo i mnogih namirnica (hleb, kolači, keks, supe, sosovi, kaše i kokice). Za potrebe silaže se koristi cela biljka, a kao industrijska sirovina, kukuruz se sve više koristi za proizvodnju bioetanola i biorazgradive plastike (Torney i sar., 2007; Schgiwietzke i sar., 2008).

#### 3.2 Poreklo kukuruza

Na osnovu istraživanja iz oblasti botanike, ekologije i arheologije, smatra se da je kukuruz nastao domestikacijom svog divljeg srodnika, jednogodišnje teozinte (*Zea mays* spp. *parviglumis*), endemita nizijskih predela jugozapadnog dela Meksika (Beadle, 1939; Mangelsdorf, 1986). Filogenetskom analizom 264 pojedinačne biljke primenom SSR markera, potvrđeno je da je poreklo kukuruza vezano za domestikaciju teozinte pre oko 9000 godina (Doebly, 1996; Matsuoka i sar., 2002). Središtem domestikacije se smatra centralni deo doline reke Balzas, gde *Z. mays* spp. *parviglumis* raste endemski. Rezultati arheoloških iskopavanja otkrili su prisustvo tragova kukuruza u nizijskim predelima Srednje Amerike koji datiraju od pre nekih 8700-7300 godina (Dickau i sar., 2007; Pohl i sar., 2007; Hastorf, 2009; Piperno i sar., 2009).

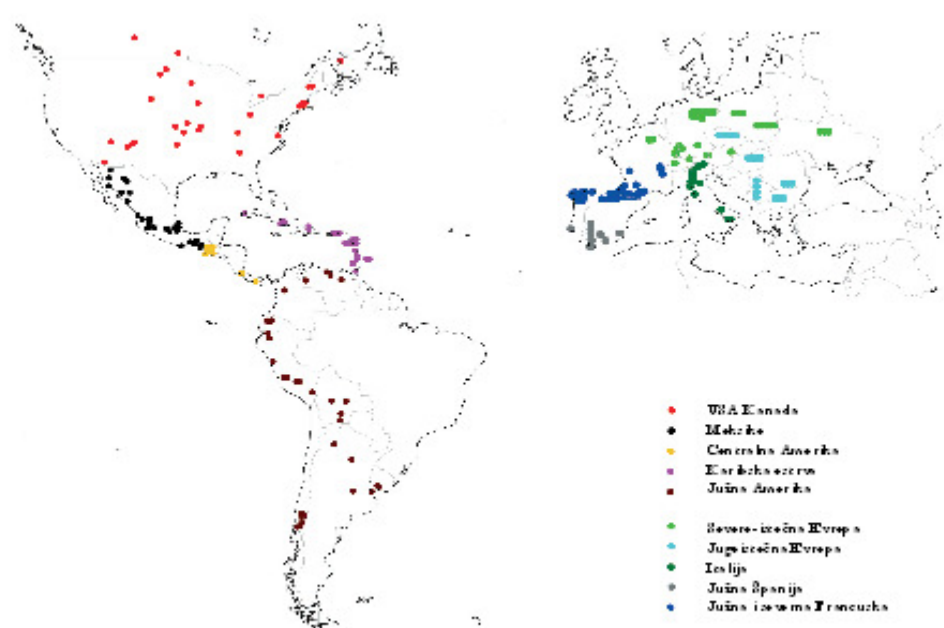
Za razliku od nizijskih predela, najstariji ostaci kukuruza meksičkih visoravni datiraju od pre 6200 godina (Benz, 2001) i smatra se da su sve sorte koje i danas rastu širom američkog kontinenta, poreklom od njega. Međutim, na osnovu analiza molekularne genetike, uočeno je da je kukuruz meksičkih visoravni srodniji *Z. mays* spp. *parviglumis*-u koji ne raste u tim oblastima, od kukuruza ravničarskih predela. Ova saznanja su nametnula potrebu za objašnjenjem i povezivanjem genetičkog porekla današnjeg kukuruza sa činjenicom koja je potkrepljena arheološkim i genetičkim nalazima da se domestifikacija odigrala u ravničarskim predelima.

Predložena su tri objašnjenja. Prvo objašnjenje bi bilo da je u vreme domestifikacije kukuruza, *Z. mays* spp. *parviglumis* rasla na meksičkim visoravnima (van Heerwaarden i sar., 2010). Drugo objašnjenje bi bilo da su se rano domestifikovani genotipovi iz ravničarskih širili u brdske krajeve i vremenom potisnuli ravničarske populacije (van Heerwaarden i sar., 2011). Ni jedno od ponuđena dva objašnjenja nije u potpunosti zadovoljavajuće: *Z. mays* spp. *parviglumis* je verovatno rastao na nižim nadmorskim visinama i u hladnijim i suvljim klimatskim uslovima, karakterističnim za period domestifikacije (Metcalf, 2006), dok je hipoteza o zameni ravničarskih brdskim populacijama kukuruza, s obzirom na razlike u njihovoj adaptaciji, malo verovatna (Eagles i sar., 1994). Postojeći dokazi nameću i treće objašnjenje da kukuruz meksičkih visoravni raste zajedno sa drugom podvrstom jednogodišnje teozinte, *Zea mays* spp. *mexicana*, i da sa njom daje fertilno potomstvo, što je potkrepljeno dokazima o protoku gena od *Z. mays* spp. *mexicana* u kukuruz (Ellstrand i sar., 2007). Ova saznanja su u potpunosti saglasna sadašnjim podacima iz oblasti ekologije, arheologije i genetike.

### 3.3 Širenje kukuruza iz centara porekla

Pre nekih 4.000 godina iz Meksika (doline *Tehuacán* i *Oaxaca*, centri porekla), kukuruz se počeo difuzno širiti Centralnom Amerikom ka Karibima, preko Gvatemale ka Ekvadoru, a zatim istočnim padinama Anda ka Čileu, Peruu i Argentini (slika 1).

Oko 700-te godine n.e., kukuruz se počeo širiti u Severnu Ameriku dolinom reke Rio Grande, ka severu istočnim i zapadnim obroncima Stenovitih planina, kao i na istok duž glavnih rečnih tokova Arkanzasa, Misisipija i Ohaja. Do 1200 g.n.e, kukuruz se počeo gajiti i na teritoriji Nove Engleske i Kanade (Galinat, 1992).



Slika 1. Geografska distribucija kukuruza

Diverzitet kukuruza na tlu Evrope nastao je zahvaljujući dvema zasebnim introdukcijama (introdukcijom genotipova umerenog pojasa severoistočne Amerike i kasnijom introdukcijom tropskih genotipova iz zapadne Indije), što je zaključeno na osnovu RFLP i SSR analize grupnih uzoraka 200 američkih i evropskih populacija (slika 1; Rebourg i sar., 2003; Dubreuil i sar., 2006).

Prve dve introdukcije kukuruza na teritorije bivše Jugoslavije desile su se tokom 16. veka i uključivale su tvrduce sa Karipskih ostrva, Meksika i Anda. Treća introdukcija, u 18. veku, je obuhvatala tvrduce poreklom iz Kanade i Nove Engleske (SAD), dok je poslednja, (u 19. veku), uključivala zubane kukuruznog pojasa SAD-a (Trifunović, 1978).



### 3.4 Čuvanje genetičke varijabilnosti kukuruza

Varijabilnost genotipova kukuruza daleko prevazilazi varijabilnost svih ostalih žitarica i predstavlja nemerljivo bogatstvo za čovečanstvo. Dve glavne *in vivo* strategije za čuvanje biljnih genetičkih resursa su *in situ* i *ex situ* konzervacija. Iako je *in situ* oblik prirodan i najpoželjniji oblik čuvanja biljnih genetičkih resursa, u potpunosti mu je komplementaran *ex situ* način konzervacije, koji se sprovodi u skladu sa odgovarajućim naučno-tehnološkim aktivnostima u okviru banaka gena (Taba, 2005).

*Ex situ* kolekcije kukuruza obuhvataju lokalne populacije, poboljšane populacije (sintetike i kompozite), linije (rane generacije u procesu stvaranja i čiste homozigotne inbred linije), referentne hibride, kao i divlje vrste i srodnike.

Procenjuje se da ukupan broj uzoraka kukuruza na američkom kontinentu iznosi oko 27 000 (nije uključen komercijalni materijal), dok se na evroazijskom i afričkom kontinentu taj broj kreće u intervalu od 20 000 do 40 000, u zavisnosti od toga da li je u njega uračunat komercijalni materijal i uz pretpostavku o postojanju velikog broja duplikata (Taba, 1997).

### 3.5 Korišćenje genetičkih resursa kukuruza i koncept *pre-breeding-a*

Ogromno genetičko bogatstvo koje se čuva u bankama gena dobija ekonomski značaj samo onda kada se pravilno koristi.

Identifikacija potencijalno korisnih gena, tj. pronalaženje superiornih genotipova koji poseduju visok potencijal za prinos, izraženiju otpornost na bolesti i štetočine, veću tolerantnost na abiotički stres ili bolji nutritivni sastav zrna, je veoma zahtevno i skupo. Zato oplemenjivači uglavnom koriste svoje radne kolekcije koje uključuju adaptirani i poboljšani materijal, izbegavajući divlje srodnike, lokalne populacije i egzotični materijal koji se čuva u bankama gena (Marshall i sar., 1989; Vančetović i sar., 2010).

Poznato je da se komercijalni hibridi kukuruza zasnivaju na uskoj genetičkoj osnovi, čije su roditeljske komponente elitne inbred linije, od kojih se za kratak vremenski period očekuju što bolje agronomske performanse (Goodman, 1990). U cilju stvaranja novih populacija i inbred linija kukuruza, čime bi se omogućilo kontinuirano genetičko poboljšanje, u širokoj upotrebi su komercijalni F<sub>1</sub> hibridi kao roditeljska germplazma (Parks, 1993). Time se, međutim, sužava genetička osnova i pojačavaju nedostaci zbog uniformnosti materijala.

Evidentno je da postoji jaz između raspoloživih genetičkih izvora i oplemenjivačkih programa, koji koriste svega 5% dostupne varijabilnosti u okviru banaka gena (Hallauer i Carena, 2009).

*Pre-breeding* je koncept koji predstavlja najbolju vezu između genetičke varijabilnosti koja se čuva u bankama gena i oplemenjivačkih programa, a obuhvata sve aktivnosti u cilju identifikacije poželjnih karakteristika i / ili gena iz neadaptiranog (egzotičnog ili poluegzotičnog) materijala, uključujući i adaptirani materijal koji će biti pod nekim selekcionim pritiskom (Nass i Paterniani, 2000). Egzotični materijal se odnosi na germplazmu koja, bez prethodne selekcije na adaptiranost u određenom agrokološkom području, nema direktnu upotrebu (Hallauer i Miranda, 1988). Ukrštanjem adaptirane germplazme i germplazme koja u sebi sadrži različit procenat egzotike (25, 50, 75 i 100%) se dobija poluegzotični materijal (Michelini i Hallauer, 1993). Za odabir najboljih rekombinacija poželjnih alela, potrebno je minimum pet generacija slučajnog ukrštanja uz primenu blažeg selekcionog pritiska (Lonnquist, 1974). Kod Wellhausena (1965) se navodi da je preporučeni udeo inkorporirane egzotične germplazme u adaptirani materijal kukuruznog pojasa Amerike 25%, dok se iz rezultata Crossa i Gardner-a (1987) uočava da se prinosi populacija sa 75 i 100% egzotike međusobno ne razlikuju, ali da su ove populacije superiornije od onih koje u sebi sadrže 50% egzotičnog materijala.

Značaj *pre-breeding*-a se ogleda u stvaranju novih osnovnih populacija za potrebe oplemenjivanja, koje pomažu u identifikaciji heterotičnih grupa (Crossa i sar., 1990). Heterotične grupe su odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju dobijanja hibrida kukuruza što boljih performansi, nastalih u različitim ukrštanjima populacija (Reif i sar., 2005a; Babić i sar., 2011).

Dodatni značaj uspešno sprovedenog *pre-breeding* programa je i formiranje tzv. jezgrovnih (*core*) kolekcija, koje predstavljaju genetički diverzitet određene vrste i njenih srodnika, sa minimumom ponovljivosti (Frankel, 1984). Jezgrovna kolekcija je uvek značajno manja po obimu u odnosu na kolekciju od koje je formirana. Brown (1989 a, b) je sugerisao da jezgro ne bi trebalo da sadrži više od 10% izvorne kolekcije i sa ne više od 2000 genotipova, što bi predstavljalo oko 70% genetičke varijabilnosti. U praksi, veličina većine *core* kolekcija se kreće u opsegu od 5% do 20% osnovne kolekcije, i sa ne više od 3000 genotipova. Jezgro bi trebalo da je dinamično, tj. moguće

je identifikovati nove genotipove sa poželjnim agronomskim osobinama koji će zameniti postojeće, u zavisnosti od potreba oplemenjivačkih programa (van Hintum i sar., 2000; Gouesnard i sar., 2005).

U okviru CIMMYT-ove kolekcije, formirane su *core* kolekcije germplazme kukuruza za određene regione. Taba i sar. (1998) su formirali *core* od genotipova kukuruza sa Kariba, dok su Malosetti i Abadie (2001) formirali *core* od lokalnih populacija Urugvaja. Formiranje reprezentativne *core* kolekcije evropskih populacija kukuruza je realizovano preko GEN RES CT96-088 projekta, finansiranog od strane Evropske Unije (Gousnard i sar., 2005).

### **3.6 Klimatske promene**

U dvadesetom veku, prosečan porast temperature na globalnom nivou je iznosio 0,8°C, a predviđanja globalnih klimatskih promena ukazuju da će se zagrevanje atmosfere nastaviti i u 21. veku, između ostalog i zbog porasta emisije gasova i efekta staklene bašte (IPCC, 2007).

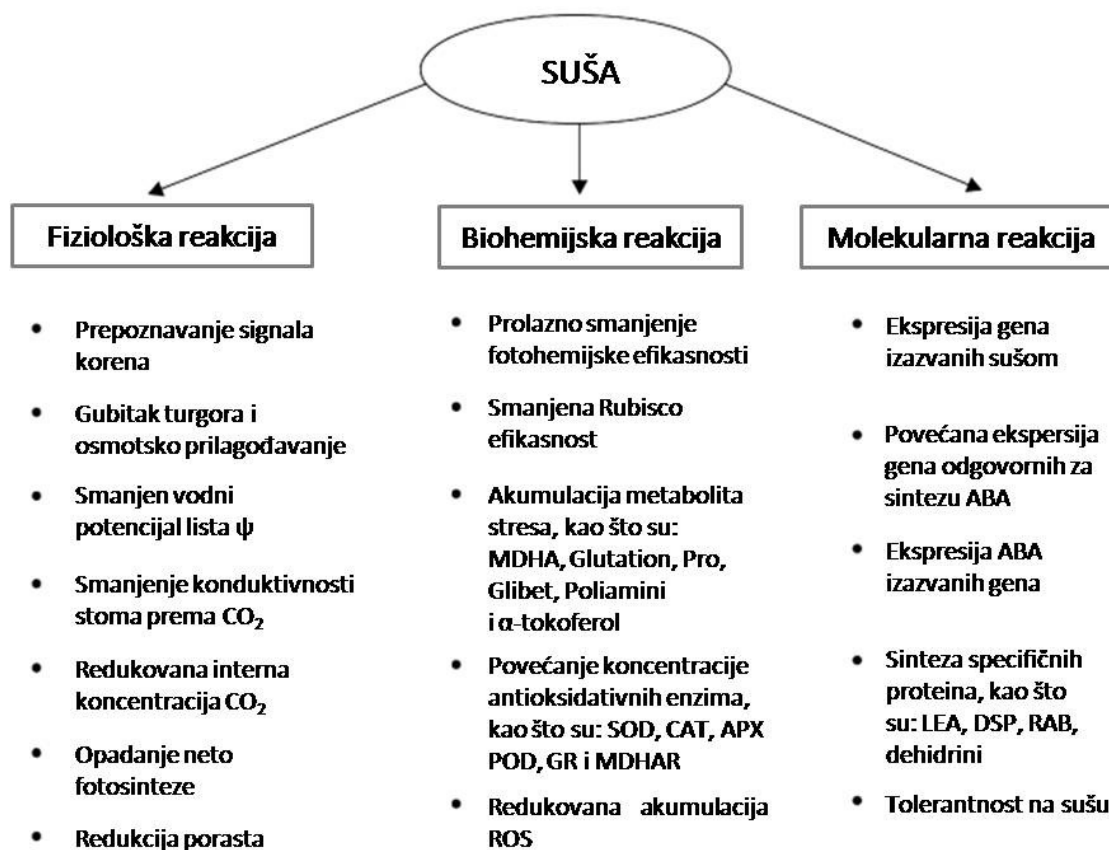
Procene, bazirane na osnovu regionalnog istraživanja klimatskih promena, i to po umerenom scenariju (koji predviđa da koncentracija CO<sub>2</sub> na kraju ovog veka bude 700 ppm), ukazuju da će temperatura u Srbiji do kraja ovog veka porasti za 2,6°C. Otopljanje neće biti ravnomerno tokom godine; leto će biti toplije za 3,5°C, jesen za 2,2°C, zima za 2,3°C, a proleće za 2,5°C. Očekuje se povećana učestalost, intenzitet i trajanje meteoroloških suša, kao rezultat povećanih temperatura, smanjenih letnjih padavina i učestalijih dužih sušnih perioda. Ovaj trend će se nastaviti naročito na jugoistoku i istoku Srbije. Promene u režimu padavina i suša imaće direktnog uticaja na oticanje i proticaj reka, čime se usložnjava problematika vodosnabdevanja i navodnjavanja (Popović i sar., 2008).

### 3.7 Stres suše

Suša je, u meteorološkom smislu, kompleksan pojam koji uključuje vreme pojave, intenzitet i trajanje vodnog deficita, u kombinaciji sa visokim temperaturama vazduha. Visok stepen variranja ovih faktora otežava precizno definisanje osobina biljke odgovornih za njeno uspešno preživljavanje u takvim uslovima (Rao and Cramer, 2003). Zbog nemogućnosti predviđanja njenog nastanka, geografskog i sezonskog, uključujući i tekuće klimatske promene sa trendom porasta temperature i intenziteta evapotranspiracije, može se očekivati sve izraženiji negativni uticaj suše (Ribaut i sar., 2004; Banziger i Araus, 2007).

Sa ekofiziološkog aspekta, biljke su u stanju vodnog deficita, tj. suše, kada je turgor tkiva manji od maksimalnog (Araus i sar., 2003). Stanje smanjenog turgora tkiva nastaje kada je intenzitet transpiracije veći u odnosu na stepen usvajanja vode iz zemljišta, kao i u slučaju smanjenja vlage u zemljištu (zemljišna suša), povećanja temperature vazduha (temperaturni šok), smanjenja vlažnosti i povećanja intenziteta strujanja vazduha (vazдушna suša; Kardol i sar., 2010).

Suša pogađa sve nivoe organizacije biljke, a stepen štetnog efekta zavisi od intenziteta i dužine trajanja, biljne vrste i stadijuma razvika biljke (Farooq, 2009). Dok se uticaj umerenog vodnog deficita ogleda u redukciji sadržaja vode u tkivu, opadanju vodnog potencijala u listu i gubitku ćelijskog turgora, zatvaranju stoma i smanjenju izduživanja i rasta ćelija, uticaj izrazitog vodnog deficita (desikacija) rezultuje prestankom procesa fotosinteze, opštim narušavanjem metabolizma, što za posledicu ima smrt ćelije (slika 2; Shao i sar., 2008; Smirnoff, 1993; Jaleel, 2008).



Slika 2. Fiziološka, biohemijska i molekularna osnova tolerantnosti na sušu kod biljaka

Izvor: Shao i sar., (2008). *Comptes Rendus Biologies* (331): 215-225

Osmotski stres izazvan sušom, može poremetiti redoks homeostazu i dovesti do oksidativnog stresa, koji se ogleda u povećanom stvaranju reaktivnih oblika kiseonika (*reactive oxygen species*, ROS), kao što su superoksidni radikal  $\text{O}_2^-$ , hidroksilni radikal  $\text{OH}^\cdot$  i vodonik peroksid  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Pošto dovode do oštećenja lipida, proteina i DNK, održavanje balansa između stvaranja i “gušenja” (*scavenging*) štetnog efekta ovih reaktivnih formi kiseonika je od suštinske važnosti za normalan rast i metabolizam biljke (Foyer i Noctor, 2005).

### 3.8 Mehanizmi tolerantnosti prema suši

Uočavaju se različite vrste reakcije biljke na prisustvo stresa suše:

potpuno izbegavanje suše (*escape*) - sposobnost biljke da završi svoj životni ciklus pre početka nastanka izraženije suše; izbegavanje suše (*avoidance*) - sposobnost biljke da održi visok vodni potencijal tkiva uprkos nedostatku vode u zemljištu, zahvaljujući preventivno bolje razvijenom korenovom sistemu, poboljšanim mehanizmom usvajanja vode iz podloge i sposobnosti njenog zadržavanja u ćelijama redukcijom epidermalne provodljivosti putem stoma i lenticela, smanjenom apsorpcijom zračenja uvijanjem i savijanjem listova, kao i regulisanjem stepena evaporacije smanjenjem lisne površine (Price i sar., 2002); tolerantnost na sušu - kvantitativna osobina koja je determinisana brojnim morfološkim i fiziološkim osobinama u vezi sa rastom i razvićem biljke, prinosom, stabilnošću membranskog sistema, sadržajem pigmenata, fotosintetičkom aktivnošću i osmotskim prilagođavanjem, koja omogućavaju adaptivne promene u strukturi biljke i regulisanje stope rasta i odnosa korena i nadzemnog dela, održanje osmotskog potencijala tkiva putem osmotskog prilagođavanja, kao i uključivanje fiziološko-biohemijskih i antioksidativnih sistema odbrane (Duan i sar., 2007; Praba i sar., 2009).

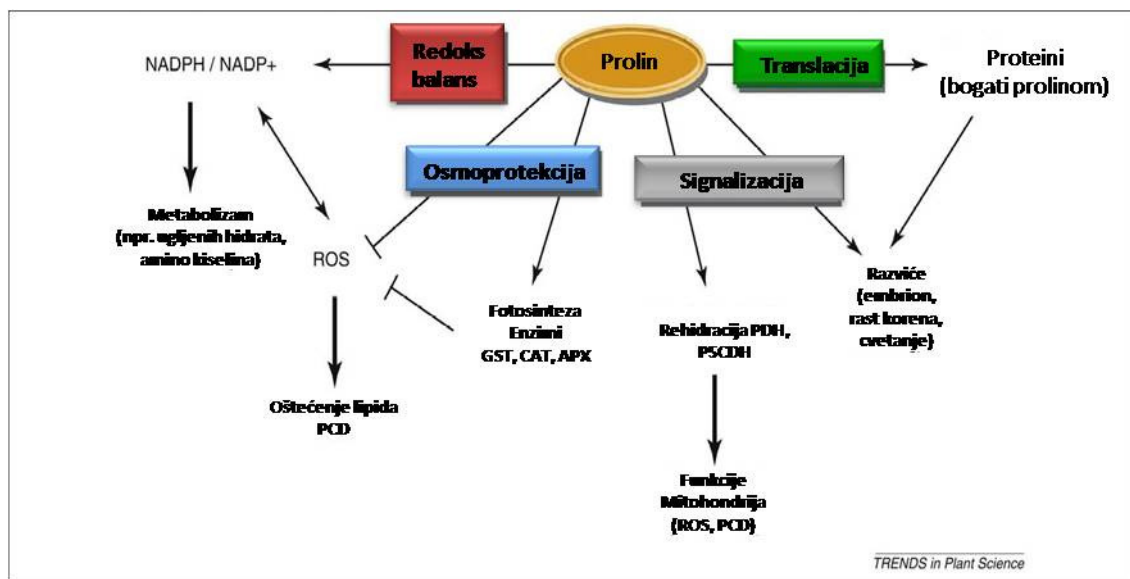
Adaptivni odgovor biljke na prisustvo vodnog deficita i osmotskog stresa (previsok osmotski pritisak), ogleda se u sintezi i akumulaciji slobodnih amino kiselina, prvenstveno prolina, kao ključnog osmotikuma, koji doprinosi osmotskom prilagođavanju regulišući osmotski potencijal u citoplazmi i omogućavajući time biljci zadržavanje vode i sprečavanje dehidracije (Caballero i sar., 2005).

Ahmed i Hasan (2011) navode da se pod uticajem vodnog deficita, akumulacija prolina povećava nekoliko puta u odnosu na normalan nivo u odsustvu stresa, što čini 80% ukupnog aminokiselinskog sastava.

Akumulacija prolina u mM koncentracijama pod dejstvom abiotičkog stresa suše, zavisi od biljne vrste i od intenziteta stresa (Delauney i Verma, 1993; Bohnert i Jensen, 1996; Shao i sar., 2007). U uslovima stresa, prolin se najviše akumulira u korenu (Oaks., 1996) i kod nekih biljnih vrsta (kukuruz) maksimalni nivo akumulacije se dostiže u fazi cvetanja (Caballero i sar., 2005; Verbruggen i Hermans, 2008), dok je kod drugih (sirak i pšenica) maksimalno povećanje sadržaja prolina zabeleženo u fazi vegetacije (Yadav i sar., 2005; Demir, 2000).

Prolin predstavlja izvor energije, ugljenika i azota, za potrebe oporavljanja tkiva od stresa.

Sadržaj prolina u tkivu biljaka rezultat je kako njegove sinteze iz glutamata pomoću enzima P5C sintetaze, tako i inaktivacije njegove razgradnje, čime se povećava njegov sadržaj (Kavi Kishor i sar., 2005).



Grafik 1. Višestruki uticaj prolina na ispoljavanje tolerantnosti u uslovima stresa

Skraćenice: APX (askorbat peroksidaze), CAT (katalaze), GSH (glutation); ROS (reaktivne forme kiseonoka), PCD (programirana smrt ćelije)

Pri smanjenom relativnom sadržaju vode u biljci, prednost povećane akumulacije prolina ogleda se u stabilizaciji membranskog sistema i proteina ćelijskog zida (Lowlor i Cornic, 2002). Prolin ne samo da pomaže biljci u prevazilaženju stresa, već, što je još važnije, eliminiše / redukuje, pod uticajem stresa, nastale štetne slobodne radikale (grafik 1, Szabados i Saviouré, 2010), i time doprinosi smanjenom oštećenju tilakoidnih membrana (Matysik i sar., 2002; Reddy i sar., 2004).

U vezi sa prolinom postoje izvesne kontroverze. Po nekim autorima povećana akumulacija prolina ne spada u adaptivni odgovor biljke, već je samo simptom stresa (Hanson i sar., 1979; Lutts i sar., 1999). Međutim, kod velikog broja genotipova tolerantnih na sušu je utvrđeno da postoji izrazito povećana sinteza prolina. I upravo iz tog razloga, povećana akumulacija prolina se može smatrati dobrim selekcionim

kriterijumom i pokazateljem tolerantnosti na stres suše (Valentovič i sar., 2004; Shao i sar., 2007).

Hormon abscisinska kiselina (ABA), ima centralnu ulogu u odgovoru biljke na stres suše regulišući zatvaranje stoma, čime se sprečava preterano odavanje vode. Na taj način se, međutim, ograničava fiksacija CO<sub>2</sub> i smanjuje regeneracija NADP<sup>+</sup> u Calvinovom ciklusu, što za posledicu ima stvaranje ROS-a nastalih kao posledica pojačanog predavanja elektrona molekulima kiseonika (Arora i sar., 2002). Preterano generisanje ROS-a dovodi do nastanka oksidativnog stresa, čiji se negativan efekat ogleda u oksidaciji fotosintetičkih pigmenata, membranskih lipida, proteina i nukleinskih kiselina (Yordanov i sar., 2000). Regulisanje nivoa ROS-a u ćelijama (koji se stvara i u odsustvu stresa, a naročito pod njegovim uticajem) je omogućeno neenzimskim i enzimskim sistemima zaštite (Mittler, 2002). U neenzimskim antioksidansima spadaju β-karoteni, askorbinska kiselina, α-tokoferol, redukovani glutation (GSH), dok enzimski antioksidansi uključuju superoksid dismutaze (SOD), gvajakol peroksidaze (POD), askorbat peroksidaze (APX), katalaze (CAT), polifenol oksidaze (PPO) i glutation reduktaze - GR (Foyer i Noctor, 2003).

Svojim učešćem u procesima rasta i razvića biljke, u odgovorima na uticaj stresa, u regulisanju metabolizma hormona i ćelijskog zida, kao i uključivanjem u antioksidativnu odbranu, gvajakol peroksidaze (klasa III, EC 1.11.1.7) se mogu smatrati dobrim biomarkerima i pokazateljima prisustva biotičkog i abiotičkog stresa (Jouili i sar., 2011).

Na osnovu navedenog, može se zaključiti da je odgovor biljke na stres suše veoma složen. Za potrebe savremene selekcije i kreiranje useva koji će pokazati bolju produktivnost i stabilnost u uslovima suše, od velikog značaja je razumevanje morfološke, anatomske, fiziološke i biohemijske osnove odgovora biljke na ovaj abiotički stres.



### 3.9 Stres suše kod kukuruza i mehanizmi tolerantnosti

Kukuruz je biljka širokog areala rasprostranjenosti (od 58° s.g.š do 40° j.g.š), raste na visinama ispod nivoa mora (depresija Kaspijske nizije) do 3800m.n.v, kao i u oblastima sa 250mm do više od 5000mm padavina godišnje. Iako je bez premca po adaptiranosti na ovako različite agro-ekološke uslove u odnosu na sve ostale žitarice, proizvodnja kukuruza u svetu je u velikoj meri ograničena brojnim stresnim faktorima spoljašnje sredine, na prvom mestu sušom, koja izrazito nepovoljno deluje na razviće i metabolizam kukuruza, u znatnoj meri smanjujući prinos i pogoršavajući kvalitet zrna (Chaves i sar., 2002).

Kukuruz, kao i većina žitarica, je najosetljiviji na stres suše u fazi cvetanja, kada se odvijaju izduživanje svile, polinacija, porast polenove cevi i početak formiranja zrna (Abdelmula i Ebrahim-sabile, 2007). U uslovima vodnog deficita, pojava svile može kasniti u odnosu na pojavu polena. Ako je kašnjenje nekoliko dana, može doći do nepotpunog oplođenja i smanjenja broja formiranih zrna, što za posledicu ima slabu ozrjenost vrha klipa. Suša i visoka temperatura mogu dovesti i do desikacije svile, izazivajući slabo klijanje polena i porast polenove cevi, što takođe može smanjiti broj zrna (Setter et al., 2001). Vodni deficit usporava pojavu svile, a samim tim i porast klipa, mnogo više nego što utiče na porast metlice i samo metličenje, rezultirajući u povećanju broja dana između metličjenja i svilanja (*ASI - anthesis silking interval*; Edmeades i sar., 1993; Edmeades i sar., 2000). Prinos, u uslovima stresa suše tokom cvetanja, pokazuje visoku zavisnost od broja zrna po biljci, jalovosti i ASI-a kod kukuruza (Anđelković, 2000; Zhang i sar., 2008). Pojava svile, čija je uloga da obezbedi vodu i hranljive materije polenovom zrnju za klijanje, može poslužiti kao parametar brzine porasta klipa. Kako suša manje utiče na porast metlice, ASI predstavlja osobinu koja je i pokazatelj brzine porasta i klipa i cele biljke u vreme cvetanja.

Pored ASI-a, od velikog značaja je i mehanizam regulacije ugljenih hidrata. U uslovima suše dolazi do smanjene snabdevenosti ugljenim hidratima i vegetativnih i reproduktivnih organa u razvoju, što rezultuje smanjenjem veličine zrna. Pojava suše u ranoj fazi formiranja zrna, (posebno su osetljiva zrna na vrhu klipa, koja su i najmlađa i najudaljenija od izvora), naročito tokom prve dve nedelje posle polinacije, ima mnogo veći negativan efekat na konačni prinos nego u kasnijoj fazi, fazi nalivanja zrna, u kojoj utiče na smanjenje prinosa prvenstveno preko smanjenja veličine zrna (Wardlaw, 2002).

Pod uticajem stresa suše u toku faze nalivanja zrna, dolazi do smanjenja intenziteta fotosinteze i protoka asimilata, jer su ispod nivoa neophodnog za formiranje i rast zrna (Ehleringer i Pearcy, 1983; Borrás i sar., 2004). Smanjenje stope fotosinteze može biti posledica smanjenja apsorpcije svetlosti, smanjenja razvijenosti i uvijenosti lista, smanjenja zelene lisne površine, kao i zbog redukovane fiksacije ugljenika po jedinici lisne površine usled zatvorenosti stoma (Lawlor i Tezara, 2009; Lopes i sar., 2011). Ometanje i prestanak protoka asimilata usled dejstva vodnog deficita, sprečava razvoj zrna usled smanjene aktivnosti ključnih enzima u metabolizmu ugljenika (Smith i Stitt, 2007).

Biljke pribegavaju mnogim adaptivnim mehanizmima kao odgovor na uticaj dehidracije i visokog osmotskog pritiska, a uključuju promene u fiziološkim i biohemijskim procesima. Među njima, posebnu pažnju izaziva sinteza i akumulacija kompatibilnih rastvorljivih jedinjenja u korenu i listu, koja dovode do metaboličkog prilagođavanja, i u koje spadaju različiti šećeri, polioli, prolin i betain (Samaras i sar., 1995). Kompatibilna jedinjenja (čija je odlika visok nivo akumulacije u citoplazmi u uslovima stresa, bez remećenja strukture i metabolizma ćelije) se mogu klasifikovati u dve kategorije: ona koja sadrže azot, kao što su prolin i druge amino kiseline, i jedinjenja koja sadrže kvaternerni amonijum, u koje spadaju saharoza, polihidroksilni alkoholi i oligosaharidi (Mohammadkhani i sar., 2008).

Kao adaptivni odgovor biljke na vodni stres, povećana akumulacija prolina doprinosi osmoregulaciji, stabilizaciji makromolekula, detoksikaciji štetnih radikala, regulisanju ćelijskog redoks statusa i služi kao izvor ugljenika i azota nakon oslobađanja biljke od vodnog deficita (Smirnoff i Cumbes, 1989; Hare i Cress, 1997).

Istraživanja mnogih autora ukazuju na ulogu rastvorljivih šećera u zaštiti od stresa izazvanog sušom. Putevi metabolizma šećera su tesno povezani sa putevima metabolizma jedinjenja bitnih za prevazilaženje stresa, abscisinske kiseline i giberelina (Finkelstein i Gibson, 2001). Šećeri, ne samo što predstavljaju izvor energije i direktno učestvuju u sintezi drugih jedinjenja, već doprinose stabilizaciji ćelijskih membrana (Hoekstra i sar., 2001) i deluju kao signalni molekuli (Koch, 1996) i regulatori ekspresije gena koji mogu ukazati na metaboličke puteve od značaja za adaptivnu reakciju biljke na stres (Sheen i sar., 1999; Smeekens, 2000).

U procesu selekcije na stresne faktore, mogu se izdvojiti tri strategije (Blum, 1983):

prva strategija polazi od toga da će biljni materijal koji daje visok prinos u optimalnim uslovima gajenja, davati relativno visok prinos i u manje povoljnim uslovima, zadržavajući objedinjene osobine prinosa i stabilnosti (Johnson i Frey, 1967);

druga strategija polazi od toga da se superiorni genotipovi testiraju u posebnim, sušnim sredinama, uz primenu odgovarajućeg selekcionog pritiska (Arboleda-Rivera i Compton, 1974);

treća, alternativna strategija, koju predlaže Blum (1979), obuhvata inkorporaciju relevantnih pokazatelja otpornosti prema suši u genotipove sa visokim potencijalom za prinos u optimalnim uslovima, što bi trebalo da se odrazi na njihovu bolju adaptiranost na manje povoljne uslove.

Idealan genotip za sušne uslove bi trebalo da ima sledeće karakteristike (Bolaños i Edmeades, 1996):

- korenov sistem koji poseduje sposobnost zadržavanja pristupačne vode u zemljištu
- rano cvetanje i rano sazrevanje zrna, ako je kišna sezona izvesna i kratka (nedostatak je relativno nizak prinos zbog kraćeg vegetacionog perioda)
- kasno sazrevanje sa relativno visokim prinosom u optimalnim uslovima i u uslovima suše (prinos je stabilan usled smanjenog efekta suše na broj i veličinu zrna)
- kratak period (mali broj dana) između metličanja i svilanja (ASI - *anthesis silking interval*)
- odloženo starenje listova (*senescence*, odnosno visok *stay green*)
- tolerantnost na visoke temperature
- odsustvo uvijenosti lista
- odsustvo oštećenja lisne površine
- jedan klip po biljci
- veliki broj zrna
- veliku masu zrna

Korišćenje sekundarnih osobina, koja su pokazatelji tolerantnosti prema suši se preporučuje u brojnim istraživanjima (Ludlow i Muchow, 1990; Fukai i Cooper, 1995), iako je njihov doprinos primarnom oplemenjivačkom svojstvu, povećanju prinosa u uslovima stresa, teško precizno odrediti.

Sekundarne osobine, kao pokazatelji tolerantnosti prema suši bi trebalo da poseduju sledeće karakteristike: da su genetički vezane za prinos u uslovima suše, da su visoko nasledne, da poseduju genetičku varijabilnost, da su stabilne i pogodne za merenje, kao i da nisu vezane za gubitak prinosa u optimalnim uslovima gajenja (Edmeades i sar., 2001).

Na osnovu koeficijenta heritabilnosti i korelacije sa prinosom u uslovima stresa suše, preporučene su sledeće sekundarne osobine, značajne za poboljšanje prinosa zrna kukuruza u uslovima stresa (Bänziger i sar., 2000):

- interval između metličanja i svilanja - ASI (*anthesis silking interval*)
- *stay green* osobina
- jalovost biljaka
- ozrnjenost klipa
- nalivenost zrna

Ostale osobine u vezi sa promenama korenovog sistema, kao što su dužina i ostvarena biomasa, mogu biti od dodatnog značaja posle testiranja materijala u poljskim uslovima (McCully, 1999). U ispitivanjima odnosa ranog porasta korena klijanaca kukuruza i efekta suše na prinos, utvrđeno je da je veći prinos u uslovima suše u korelaciji sa redukovanom biomasom korena (Bruce i sar., 2002). S druge strane, stres suše utiče i na premeštanje biomase korena u dublje slojeve zemljišta, kako bi se došlo do novih izvora pristupačne vode. Razvoj i funkcionisanje korena u uslovima suše su veoma značajni za sposobnost biljke da zaštiti ćelijske membrane i enzime od uticaja stresa, kako bi se biljka oporavila od vodnog deficita i kako bi se omogućilo formiranje zrna. Pored toga, sposobnost biljke da usvaja vodu iz dubljih slojeva suvog zemljišta, povećava se kroz razviće korenovog sistema i osmotsko prilagođavanje, što dovodi do stabilizacije vodnog statusa biljke i povećanja protoka asimilata do zrna.

Odgovor klijanaca kukuruza, prvenstveno korena, na vodni deficit je dosta proučavan i potvrđeno je da je to vrlo koristan model za rano utvrđivanje mehanizama za prilagođavanje biljke uslovima niskog vodnog potencijala.

Ispitivanje osobina korena u polju je prilično destruktivno, jer se prilikom iskopavanja koren znatno oštećuje (Landi i sar, 2002). Iz tog razloga, primenjuju se nedestruktivne metode pručavanja korena u ranoj fazi razvića, fazi klijanaca, u kontrolisanim laboratorijskim uslovima (Tuberosa i sar., 2002; Ruta, 2008).

### **3.10 Molekularno-genetički pristupi u ispitivanju tolerantnosti na sušu**

Molekularni markeri su u širokoj upotrebi u istraživanjima na biljkama, sa ciljem utvrđivanja filogenetskih i evolutivnih odnosa vrsta i populacija, određivanja stepena genetičkog diverziteta između različitih i srodnih vrsta, unutar populacija i itd, kao i efikasnog upravljanja genetičkim resursima (Andersen i Lübberstedt, 2003). Dobijeni podaci se mogu koristiti za "otisak" genotipova (*fingerprinting*), radi njihove identifikacije i zaštite, razumevanja veza između jedinki koje se ispituju, olakšavanja unošenja hromozomskih segmenata iz različitih vrsta, kao i za mapiranje gena koji kontrolišu ekspresiju različitih agronomski značajnih osobina (Larson, 2002).

Razvoj molekularne genetike i primena velikog broja tehnika molekularnih markera, su omogućili ne samo bolje razumevanje fizioloških parametara koji kontrolišu odgovor biljke na abiotički stres suše i onih uključenih u strukturno razviće biljke, već su obezbedili i dodatne informacije o odnosu tolerantnosti izvora i lokalne populacije i njihovoj genetičkoj raznovrsnosti, introgresiju delova genoma povezanih sa tolerantnošću prema suši u lokalnu populaciju, povećanje verovatnoće očuvanosti osobina značajnih za tolerantnost prema suši uz zadržavanje adaptiranosti tog materijala, i time stvorili nove mogućnosti za postizanje većeg stepena ispoljavanja tolerantnosti na sušu kod kukuruza (Bruce i sar., 2002). Identifikacija kvantitativnih lokusa vezanih za tolerantnost na sušu je omogućila indirektnu selekciju pomoću molekularnih markera. Istovremena primena konvencionalnog sa molekularnim oplemenjivanjem, marker-asistiranom selekcijom (MAS) i genetičkim inženjeringom, može doprineti bržem poboljšanju tolerantnosti na sušu kod gajenih biljaka (Chaves i Oliveira, 2004).

### **3.10.1 Genetički markeri**

Genetički markeri predstavljaju delove genoma koji oslikavaju genetičke razlike između različitih organizama ili vrsta, a na osnovu kojih se indirektno dobija informacija o genima (ili delovima genoma) koji se odnose na određene osobine koje se ispituju. Predstavljaju polimorfizam u strukturi DNK ili produkata ekspresije, koji je moguće detektovati (Sunnucks, 2000).

Svrstavaju se u tri velike grupe: markeri koji su zasnovani na osobinama koje se mogu vizuelno uočiti (morfološke ili agronomске osobine), markeri bazirani na genskim produktima (biohemijski markeri) i markeri čiju osnovu čine DNK sekvence (molekularni markeri).

Morfološki markeri su obično vizuelno ocenjene fenotipske osobine, kao što su npr. boja cveta, oblik semena, pigmentacija, parametri rasta korena i nadzemnog dela biljke itd. Nedostaci ovih markera se ogledaju u njihovoj ograničenoj dostupnosti, nemogućnosti razlikovanja heterozigota od homozigota, kao i u povezanosti sa štetnim fenotipskim efektima.

U biohemijske markere spadaju proteini (strukturni i rezervni) i izoenzimi (različiti alelni oblici jednog enzima; Bergmann i sar., 1989). Glavni nedostatak ovih markera su njihove moguće posttranslacione modifikacije (Staub i sar., 1982).

Idealan marker bi trebalo da ispunjava sledeće kriterijume: visok stepen polimorfizma, ravnomernu raspoređenost po genomu, kodominantno nasleđivanje, odsustvo uticaja na ispoljavanje osobina koje se ispituju, odsustvo uticaja faktora spoljašnje sredine na njihovu detekciju, kao i mogućnost da se lokus lako i brzo uoči u ranim fazama razvića (Smith, 1987).

### **3.10.2 Molekularni markeri**

Molekularni markeri su fragmenti DNK molekula, koji mogu biti deo gena ili nekodirajućih delova genoma. Osnovna karakteristika ovih markera je visok stepen polimorfizma (visok stepen varijacija u određenoj DNK sekvenci, prisutnih u populaciji). Većina ovih varijacija je prisutna u nekodirajućim delovima genoma, koje imaju veoma mali ili nikakav efekat na fenotip i funkcije organizma, a mogu se lako detektovati na nivou DNK (Farooq i Azam, 2002; Gupta, 2002).

Molekularni markeri najviše ispunjavaju zahteve idealnog genetičkog markera i mogu se podeliti na:

1. RFLP (engl. *Restriction Fragment Length Polymorphism* - Polimorfizam Dužine Restriktionih Fragmentata) - markeri zasnovani na hibridizaciji
2. PCR (*Polymerase Chain Reaction*) markeri - markeri zasnovani na lančanoj reakciji polimeraze
  - RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - nasumično umnožena polimorfna DNK) - markeri koji koriste nasumične prajmere
  - SSR (*Simple Sequence Repeat* - ponovci jednostavnih sekvenci) – markeri koji koriste specifične prajmere
3. AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - polimorfizam dužine amplifikovanih fragmenata) - markeri zasnovani na PCR-u i restriktionom „isecanju“
4. STS (*Sequence Tagged Site*) - markeri poznate sekvence i lokacije u genomu, zasnovani na PCR-u
5. SNP (*Single Nucleotide Polymorphism* - polimorfizam pojedinačnih nukleotida) - markeri zasnovani na tačkastim mutacijama (zamena jednog baznog para) u molekulu DNK

### 3.10.3 PCR molekularni markeri

PCR metoda, zasnovana na enzimatskoj *in vitro* amplifikaciji DNK, omogućava dobijanje velikog broja kopija željene sekvence, bez potrebe za molekularnim kloniranjem. U cilju amplifikacije željenog fragmenta DNK, dizajniraju se dva jednolančana oligonukleotidna prajmera, koja su komplementarna ciljnoj sekvenci molekula DNK i hibridizuju na njenim suprotnim stranama. Dodavanje termostabilne DNK polimeraze u odgovarajući puferski sistem, a zatim serija ciklusa koji uključuju korake denaturacije dvolančanog molekula DNK, vezivanje prajmera i ekstenziju vezanih prajmera, rezultira u eksponencijalnoj amplifikaciji specifičnih fragmenata. Detektovani polimorfizam se ogleda u različitim dužinama amplifikovanih fragmenata.

SSR (*Simple Sequence Repeat*) markeri su široko korišćeni PCR zasnovani markeri. Sastoje se od tandemske ponovljenih kratih sekvenci molekula DNK, dužine 2 do 6 bp (Chambers i MacAvoy, 2000). Sekvence su prisutne u genomima svih

eukariota, a detektovane su i kod prokariotskih organizama. Varijacije u broju ponavljanja ovih sekvenci rezultuju u PCR produktima različitih dužina. Regioni koji ograničavaju ove sekvence se koriste za dizajniranje parova prajmera specifičnih za neki lokus. Razlika u veličini alela od samo jednog baznog para, može biti detektovana primenom ove tehnike.

SSR markeri su veoma polimorfni, informativni, kodominantni (omogućavaju detekciju heterozigota), brojni su i ravnomerno raspoređeni po genomu. Njihov glavni nedostatak je što je neophodno dosta vremena i ulaganja za njihov razvoj, jer se prvo moraju identifikovati regioni koji ih nose (Holland i sar., 2001).



#### 4. RADNA HIPOTEZA

Značaj biološkog diverziteta na nivou gena, vrste i ekosistema je nemerljiv za čovečanstvo i preduslov je održivog razvoja. Genetička varijabilnost, prisutna u tradicionalno gajenim sortama i divljim srođnicima, koji su adaptirani na određene uslove sredine ili poseduju specifične osobine (otpornost na bolesti, insekte, štetočine ili tolerantnost na abiotički stres) omogućava razvoj novih i poboljšanih varijeteta sa poželjnim karakteristikama. Imajući u vidu genetičku varijabilnost, kukuruz je jedna od najbolje očuvanih biljnih vrsta.

Zbog sve prisutnijih promena klime i trenda globalnog otopljanja, poboljšana sposobnost kukuruza da izdrži periode suše je esencijalna u mnogim regionima sveta, uključujući i Srbiju, zbog čega je neophodno multidisciplinarno proučavanje osobina koje doprinose povećanoj tolerantnosti kukuruza na sušu.

U okviru ovog istraživanja se pošlo od pretpostavke da je unutar kolekcije kukuruza banke gena Instituta za kukuruz «Zemun Polje», sa preko 5800 genotipova velike genetičke varijabilnosti, moguće stvaranje jezgrovne kolekcije od genotipova sa povećanom tolerantnošću na stres suše. Testiranjem u poljskim uslovima i detaljnijom karakterizacijom i evaluacijom ovih genotipova, razmatranjem fizioloških i biohemijski parametara uključenih u odgovor biljke na abiotički stres u ranoj fazi razvića, kao i primenom molekularnih markera, će se omogućiti njihovo efikasno korišćenje u različitim selekcionim programima.

Novostvoreni materijal koji će u sebi sadržati tolerantnost prema suši, biće korišćen kao polazna osnova za primenu metoda klasične selekcije, popravku postojećih i dobijanje novih inbred linija i hibrida kukuruza tolerantnih prema suši, kao i za ostvarivanje višeg i stabilnijeg prinosa u takvim uslovima.

## 5. MATERIJAL I METODE

### 5.1 Biljni materijal

Za identifikaciju genotipova tolerantnih na sušu je korišćena celokupna kolekcija banke gena Instituta za kukuruz "Zemun Polje", predstavljena:

- kolekcijom domaćih populacija kukuruza, sakupljenih sa svih agro-ekoloških staništa bivše Jugoslavije - 2217 genotipova
- kolekcijom introdukovane germplazme - 3589 genotipova, koju čine:
  - 2254 introdukovane inbred linije
  - 1335 introdukovanih heterozigotnih komponenti (populacija, sintetika i kompozita)

### 5.2 Poljski ogledi

#### 5.2.1 Poljski ogledi u 2007. godini

Za testiranje svih genotipova iz banke gena, odabran je lokalitet poljoprivredne stanice Sids (dolina reke Nil, 150km južno od Kaira), za koji je karakteristično odsustvo padavina za vreme vegetacionog perioda, u kombinaciji sa visokim temperaturama vazduha, zbog čega je moguća potpuna kontrola vodnog režima navodnjavanjem.

Eksperimentalna procedura je podrazumevala grupisanje genotipova kukuruza po dužini vegetacionog perioda (po grupama zrenja), kako bi svi bili izloženi stresu suše u približno istoj fazi vegetacionog perioda. Kao kriterijum za formiranje grupa zrenja je uzet vremenski interval između nicanja i svilanja, prikazan u tabeli 1.

Tabela 1. Grupe zrenja i vremenski interval između nicanja i svilanja

Dužina vegetacionog perioda (grupe zrenja)	Vremenski period od nicanja do svilanja
Ekstra - rana grupa zrenja	Interval od 41 - 50 dana
Rana grupa zrenja	Interval od 51 - 60 dana
Srednje - stasna grupa zrenja	Interval od 61 - 70 dana
Srednje - kasna grupa zrenja	Interval od 71 - 80 dana
Kasna grupa zrenja	Preko 81 dan

Tako grupisan materijal (ekstra rani - 227, rani - 1348, srednje stasni - 2684, srednje-kasni - 128 i kasni - 267 genotipova) se sejao u odvojenim parcelama, a navodnjavanje je vršeno do pojave prve metlice u svakoj grupi, tj. do dve nedelje pred cvetanje najranijeg genotipa u okviru svake grupe. Posle toga je prekinuto sa navodnjavanjem. Tri nedelje pre berbe, svi genotipovi su bili vizuelno ocenjeni, i u toj fazi su zabeleženi oni najbolji.

Kao parametri za ocenu genotipova su uzeti osobina *stay green*-a (skala 1 - 5, gde je 5 ocena za najbolji *stay green*, tj. 90-100% listova zelene boje; Wanous i sar., 1991) i ukupan izgled genotipa (skala 1 - 8, gde je 8 ocena za najbolji ukupan izgled genotipova u redu, koji je obuhvatao broj biljaka, broj jalovih biljaka, broj klipova, broj kočanki bez zrna, ozrnjenost klipa i nalivenost zrna). Na osnovu zabeleženih datuma metličanja i svilanja svih genotipova, izračunat je broj dana između metličanja i svilanja - ASI (*anthesis silking interval*) za svaki genotip kukuruza.

Rezultat ovog dela eksperimenta je bilo izdvajanje 9,8% ispitivane germplazme (tj. 571 genotip), kao potencijalnog izvora tolerantnosti na sušu.

## 5.2.2 Poljski ogledi u 2008. godini

Odabrani genotipovi kukuruza iz prethodne godine (571 genotip), su testirani na tri lokacije: u uslovima ekstremne suše (isti lokalitet i vodni režim u Egiptu), kao i u uslovima umerenog klimata (Zemun Polje i Skoplje), kako bi se izvršio konačni odabir genotipova, tolerantnih na sušu i adaptiranih na lokalne uslove.

Ponovljena je ista eksperimentalna procedura iz prethodne godine, koja je podrazumevala grupisanje genotipova kukuruza po dužini vegetacionog perioda (po grupama zrenja). Tako grupisan materijal (ekstra rani - 60, rani - 159, srednje stasni - 171, srednje-kasni - 141 i kasni - 40 genotipova) se sejao u odvojenim parcelama i potom uobičajeno negovao i navodnjavao do dve nedelje pred cvetanje, kada je navodnjavanje prekinuto i nije primenjeno do kraja vegetacionog perioda. Ocena genotipova je vršena u fazi njihove pune zrelosti, a kao pokazatelji tolerantnosti, zapažane su sledeće sekundarne osobine relevantne za stres suše:

- interval između metličanja i svilanja - ASI (*anthesis silking interval*)

- osobina *stay green*-a
- jalovost biljke
- ozrjnost klipa
- nalivenost zrna

Na osnovu prosečnih vrednosti zapažanih sekundarnih osobina u uslovima kontrolisanog stresa suše u Egiptu (kraj meseca juna), kao i u uslovima umerenog klimata na lokalitetima Zemun Polje i Skoplje (u periodu jul - septembar), odabran je 51 genotip kao najtolerantniji na stres suše - 20 domaćih populacija, 14 introdukovanih populacija i 17 introdukovanih inbred linija kukuruza.

Pored ocene genotipova na osnovu vizuelnog praćenja sekundarnih osobina relevantnih za stres suše, u uslovima umerenog klimata u Zemun Polju i Skoplju je izvršena i ocena genotipova kukuruza na osnovu merljivih parametara koje čine komponente prinosa (težina klipa, težina oklaska i težina zrna).

### **5.2.3 Poljski ogledi u 2009. i 2010. godini**

U cilju grupisanja genofonda u heterotične grupe, odabrani 51 genotip kukuruza, kao majčinska komponenta, je ukršten sa tri testera koji pripadaju, prema postojećoj klasifikaciji, trima heterotičnim grupama (*BSSS*, *Lancaster* i nezavisna). Ukrštanja su urađena u Čileu (u toku januara 2009. godine).

Osim ispitivanja pripadnosti genotipova određenim heterotičnim grupama, urađeno je i dvogodišnje testiranje (u toku 2009. i 2010. godine) opšte kombinacione sposobnosti ukrštanja genotipova sa odabranim testerima na lokalitetima Zemun Polje i Skoplje.

Rezultat ovih testiranja je bilo izdvajanje 41-nog genotipa kao najtolerantnijeg na sušu i dobre kombinacione sposobnosti, čime je i formirana *core* kolekcija kukuruza za tolerantnost prema suši.

### 5.3 Ogledi simuliranog stresa suše u kontrolisanim laboratorijskim uslovima

#### 5.3.1 Biljni materijal

Ispitivanje odgovora klijanaca kukuruza u fazi 3 - 4 lista na stres suše u laboratorijskim uslovima, izazvan primenom osmotikuma polietilen glikola - PEG (Mr 10 000, *Sigma*) vršeno je na odabranom setu od 41-nog genotipa (tabela 2a, 2b i 2c) formirane *core* kolekcije za tolerantnost prema suši, koju čine:

- 13 domaćih populacija kukuruza
- 13 introdukovanih populacija kukuruza
- 15 introdukovanih inbred linija kukuruza

Tabela 2a. Domaće populacije kukuruza

Genotip	Naziv populacije	Zemlja porekla	DVP	Tip zrna
K <sub>1</sub>	Beli poluzuban	Srbija	srednje-stasni	polutvrđunac
K <sub>2</sub>	Brzak	Bosna i Hercegovina	rani	tvrdunac
K <sub>3</sub>	Žuti zuban	Bosna i Hercegovina	srednje-stasni	zuban
K <sub>4</sub>	Žuti zuban	Srbija	srednje-stasni	poluzuban
K <sub>5</sub>	Domaći	Slovenija	srednje-stasni	poluzuban
K <sub>6</sub>	Domaći osmak	Bosna i Hercegovina	srednje-stasni	polutvrđunac
K <sub>7</sub>	Crveni tvrdunac	Srbija	kasni	polutvrđunac
K <sub>8</sub>	Američki beli	Srbija	srednje-stasni	zuban
K <sub>9</sub>	Domaći žutac	Bosna i Hercegovina	srednje-stasni	polutvrđunac
K <sub>10</sub>	Domašna bela pčenka	Makedonija	srednje-kasni	zuban
K <sub>11</sub>	Domaći kukuruz	Bosna i Hercegovina	ekstra rani	tvrdunac
K <sub>12</sub>	Domaći	Bosna i Hercegovina	ekstra rani	polutvrđunac
K <sub>13</sub>	Domaći kukuruz	Hrvatska	ekstra rani	tvrdunac

DVP - dužina vegetacionog perioda

Tabela 2b. Inrodukovane populacije kukuruza

Genotip	Zemlja porekla	DVP	Tip zrna
P <sub>1</sub>	Iran	srednje-stasni	polutvrđunac
P <sub>2</sub>	Iran	srednje-stasni	zuban
P <sub>3</sub>	Francuska	srednje-stasni	zuban
P <sub>4</sub>	bivši SSSR	ekstra rani	polutvrđunac
P <sub>5</sub>	bivši SSSR	ekstra rani	tvrdunac
P <sub>6</sub>	Brazil	srednje-stasni	polutvrđunac
P <sub>7</sub>	Argentina	srednje-kasni	polutvrđunac
P <sub>8</sub>	SAD	srednje-stasni	poluzuban
P <sub>9</sub>	SAD	rani	polutvrđunac
P <sub>10</sub>	SAD	srednj-kasni	polutvrđunac
P <sub>11</sub>	SAD	srednje-stasni	zuban
P <sub>12</sub>	SAD	rani	zuban
P <sub>13</sub>	Pakistan	srednje-stasni	polutvrđunac

DVP - dužina vegetacionog perioda

Tabela 2c. Inrodukovane inbred linije kukuruza

Genotip	Zemlja porekla	DVP	Tip zrna
L <sub>1</sub>	SAD	srednje-stasni	zuban
L <sub>2</sub>	Grčka	srednje-stasni	polutvrđunac
L <sub>3</sub>	bivši SSSR	srednje-stasni	zuban
L <sub>4</sub>	bivši SSSR	srednje-stasni	tvrdunac
L <sub>5</sub>	Čehoslovačka	srednje-stasni	poluzuban
L <sub>6</sub>	Čehoslovačka	rani	polutvrđunac
L <sub>7</sub>	Čehoslovačka	srednje-stasni	zuban
L <sub>8</sub>	Gruzija	srednje-stasni	zuban
L <sub>9</sub>	bivši SSSR	srednje-stasni	zuban
L <sub>10</sub>	Čehoslovačka	srednje-stasni	tvrdunac
L <sub>11</sub>	Čehoslovačka	rani	polutvrđunac
L <sub>12</sub>	SAD	srednje-stasni	poluzuban
L <sub>13</sub>	bivši SSSR	rani	poluzuban
L <sub>14</sub>	Poljska	rani	tvrdunac
L <sub>15</sub>	Istočna Nemačka	srednje-stasni	tvrdunac

DVP - dužina vegetacionog perioda

### 5.3.2 Gajenje biljaka u laboratorijskim uslovima

Svaki genotip kukuruza je naklijavan tri dana na urolanom vlažnom filter papiru, 7 x 15 zrna po rolni, obmotanom plastičnom folijom i vertikalno položenom u termostat, u mraku na temperaturi od 25°C (ISTA, 2007). Po naklijavanju, klijanci približno jednakih dužina korena, su prebačeni u plastične posude na 25% modifikovani Knop-ov hranljivi rastvor u sastavu 6,1mM Ca(NO)<sub>3</sub>, 2,5mM KNO<sub>3</sub>, 3,6mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1,6mM KCl, 1,8mM KH<sub>2</sub>PO, 2,1mM MgSO<sub>4</sub>, 31μM FeCl<sub>3</sub>, 2,5μM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,2μM MnSO<sub>4</sub>, 2,0μM ZnSO<sub>4</sub>, 0,5μM CuSO<sub>4</sub> i 0,07μM (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> (Hadži-Tašković Šukalović i Vuletić, 1998). pH rastvora je podešen na 5,6.

Biljke su gajene na hranljivom rastvoru nedelju dana, u strogo kontrolisanim uslovima fitotronske komore (fotoperiod 12h, temperatura 22 / 18°C, intenzitet svetlosti 40Wm<sup>-2</sup>, relativna vlažnost vazduha 70%). Poslednjih 48h gajenja, polovina biljaka (tretman) je gajena na rastvoru koji je sadržao 40gl<sup>-1</sup> osmotikuma (PEG 10 000), uporedo sa kontrolnim biljkama koje su rasle na hranljivom rastvoru bez dodavanja PEG-a. Oba rastvora su neprekidno prodivavana vazduhom.

Kao pokazatelj uticaja osmotskog stresa izazvanog primenom PEG-a, praćeno je rastenje biljaka merenjem morfoloških parametara:

- dužine korena i nadzemnog dela klijanaca kukuruza
- sveže mase korena i nadzemnog dela klijanaca kukuruza
- suve mase korena i nadzemnog dela klijanaca kukuruza

Odgovor biljke na uticaj PEG-a kao osmotikuma praćen je merenjem sadržaja, odnosno aktivnosti fiziološko-biohemijskih pokazatelja:

- sadržaja slobodnog prolina u korenu i listu klijanaca kukuruza
- sadržaja rastvorljivih proteina u korenu klijanaca kukuruza
- aktivnosti peroksidaza u korenu klijanaca kukuruza



### 5.3.3 Morfološki parametri

#### 5.3.3.1 Merenje dužine, sveže i suve mase korena i lista kukuruza

Po prestanku gajenja biljaka na hranljivom rastvoru, korenovi klijanaca su isprani običnom i destilovanom vodom, a višak vode je lagano pokupljen papirnom vatom. Odvojen je koren od nadzemnog dela biljke i odmah su merene sveže mase i dužine. Nakon toga, koren i nadzemi deo biljke su sušeni u sušnici na temperaturi od 105°C do konstantne težine. Suva masa (Su M) korena i lista je izračunata preko odnosa apsolutnih vrednosti mase posle i pre sušenja materijala, a izražena u gramima po gramu sveže mase:

$$\text{suva masa (g g}^{-1}\text{ sveže mase)} = \frac{M_D}{M_F}$$

$M_D$  - masa posle sušenja materijala

$M_F$  - masa pre sušenja materijala

Za merenje svakog od ovih morfoloških parametara je uzeto po 20 biljaka kukuruza, u četiri ponavljanja.

### 5.3.4 Fiziološko-biohemijski parametri

#### 5.3.4.1 Određivanje sadržaja slobodnog prolina u korenu i listu kukuruza

Sadržaj slobodnog prolina u korenu i listu je određen kolorimetrijskom metodom (Bates i sar., 1973).

Za određivanje sadržaja slobodnog prolina su korišćeni sledeći reagensi:

1. kiseli ninhidrinski reagens – 2,5g ninhidrina rastvorenih u 40ml 6M fosforne kiseline i 60ml glacijalne sirćetne kiseline.
2. 3% sulfosalicilna kiselina
3. Toluol
4. Glacijalna sirćetna kiselina

Svaki uzorak (oko 1g korena / lista) je homogenizovan u avanu sa 10ml 3% sulfosalicilne kiseline, a dobijeni ekstrakt je filtriran kroz filter papir. 2ml ekstrakta je mešano sa 2ml kiselog ninhidrinskog reagensa i 2ml glacijalne sirćetne kiseline.

Reakcija je vršena u vodenom kupatilu na temperaturi od 100°C u trajanju od 15 minuta, a zatim prekidana hlađenjem u ledenom kupatilu. U reakciji nastalo obojeno jedinjenje je ekstrahovano sa 4ml toluola. Nakon energičnog mućkanja, toluolski ekstrakt je otpipetiran u kivetu za spektrofotometar i čitana je apsorbancija na talasnoj dužini od 520nm prema slepoj probi, koja je umesto homogenata sadržala 2ml rastvora 3% sulfosalicilne kiseline. Koncentracija prolina je izračunata preko faktora dobijenog sa standardne krive koja je dobijena sa različitim koncentracijama prolina, u opsegu 0,0 – 0,016mg ml<sup>-1</sup> rastvora, po formuli:

$$\text{Prolin } (\mu\text{g g}^{-1} \text{ sveže mase}) = \frac{\text{OD}_{520} \times f \times V_{\text{RE}}}{V_{\text{E}} \times M}$$

OD<sub>520</sub> - apsorbancija na λ = 520 nm

f - faktor izračunat sa standardne krive

V<sub>RE</sub> - zapremina rastvora za ekstrakciju

V<sub>E</sub> - zapremina ekstrakta

M - odmerena količina uzorka (g)

Određivanje sadržaja slobodnog prolina u svakom uzorku kukuruza je rađeno u četiri ponavljanja.

### 5.3.4.2 Određivanje aktivnosti peroksidaza u korenu klijanaca kukuruza

Aktivnost rastvorljivih peroksidaza (POD, EC 1.11.1.7) je određivana u homogenatu korena kukuruza, pripremljenog homogenizacijom oko 1g korena sa 10ml 50mM K-fosfatnog pufera, pH 7,5, u avanu sa tučkom, na hladnom. Uzorci su centrifugirani na 20000 x g u trajanju od 15 minuta. Supernatant je korišćen za određivanje POD aktivnosti. Peroksidazna aktivnost je merena spektrofotometrijski, praćenjem smanjenja apsorbancije usled oksidacije ferulinske kiseline (FK) na talasnoj dužini  $\lambda_{286}$  nm ( $\epsilon=16,8\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), a izražena je u  $\mu\text{mol}_{\text{FK}} \text{g}^{-1} \text{sveže mase min}^{-1}$ . Sastav reakcione smeše je bio: 0,1mM ferulinska kiselina, 50mM K-fosfatni pufer pH 6,5, 1mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  i 10 $\mu\text{l}$  uzorka po ml (Hadži-Tašković Šukalović i sar., 2005). Reakcija je izvođena na 30°C, otpočinjala je dodavanjem  $\text{H}_2\text{O}_2$  i bila je linearna najmanje 1 minut.

$$\text{aktivnost POD} = \frac{\Delta A_{\text{min}} \times V_{\text{RS}} \times V_{\text{PH}}}{\epsilon \times V_{\text{U}} \times M}$$

$\Delta A_{\text{min}}$  - promena absorbancije na talasnoj dužini  $\lambda_{286}$  nm  $\text{min}^{-1}$

$V_{\text{RS}}$  - zapremina reakcione smeše

$V_{\text{PH}}$  - ukupna zapremina homogenata

$V_{\text{U}}$  - zapremina uzorka

$M$  - odmerena masa uzorka (g)

$\epsilon$  - ekstinkcioni koeficijent

Specifična aktivnost peroksidaza je izračunata na bazi proteina, merenih u istom homogenatu i izražena je u  $\mu\text{mol}_{\text{ferulinske kiseline}} \text{mg}^{-1} \text{ proteina min}^{-1}$ :

$$\text{specifična aktivnost POD} = \frac{\Delta A_{\text{min}} \times V_{\text{RS}}}{\epsilon \times V_{\text{H}} \times C_{\text{prot}}}$$

$C_{\text{prot}}$  - koncentracija proteina izražena u  $\text{mg}_{\text{ proteina ml}^{-1} \text{ homogenata}}$

Određivanja peroksidaznih aktivnosti u svakom uzorku kukuruza su rađena u četiri ponavljanja.

### 5.3.4.3 Određivanje sadržaja rastvorljivih proteina u korenu klijanaca kukuruza

Sadržaj rastvorljivih proteina u ekstraktima pripremljenim za određivanje peroksidazne aktivnosti je određen spektrofotometrijski po metodi Lowry i sar., (1951).

Za određivanje sadržaja rastvorljivih proteina su korišćeni sledeći rastvori:

- A:** 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> u 0,5N NaOH
- B:** 0,5% CuSO<sub>4</sub> i 1% K-Na-tartarat
- C:** 10 A + 1 B

**Folinov rastvor:** Folinov reagens i dd H<sub>2</sub>O o u odnosu 1:11  
0,5N NaOH, 0,1N NaOH, 10% TCA

1ml ekstrakta i 1ml 10% TCA su promućkani i ostavljeni na hladnom 1h (u kivetama za centrifugiranje) radi taloženja proteina. Istaloženi proteini su centrifugirani na 10000 x g u trajanju od 15 minuta i rastvoreni u 5ml 0,1N NaOH (**rastvor proteina**).

0,3ml rastvora proteina, 0,7ml 0,1N NaOH i 1ml rastvora C je pomešano i ostavljeno da stoji 10 minuta na sobnoj temperaturi da bi se izvršila reakcija. Po izvršenoj reakciji, u sve uzorke je dodato po 3ml Folinovog reagensa. Uzorci su odmah energično promućkani i inkubirani 10 minuta u vodenom kupatilu na temperaturi od 50°C. Kada se rastvor ohladio, čitana je apsorbancija na talasnoj dužini λ<sub>750nm</sub>. Od apsorbancije uzoraka je oduzeta apsorbancija slepe probe, koja je umesto rastvora proteina, sadržala 0,1N NaOH. Koncentracija proteina u uzorcima je određena sa standardne krive za poznate koncentracije BSA (*Bovine serum albumin*).

$$\text{proteini (mg g}^{-1}\text{ sveže mase)} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times M_{\text{BSA}} \times V_{\text{PH}}}{V_{\text{RP}} \times M}$$

V<sub>NaOH</sub> - zapremina 0,1N NaOH (ml)

V<sub>RP</sub> - zapremina rastvora proteina (ml)

M<sub>BSA</sub> - masa BSA sa standardne krive (mg)

M - masa uzorka (g)

Određivanje sadržaja rastvorljivih proteina u svakom uzorku kukuruza je rađeno u četiri ponavljanja.

### 5.3.5 Izoelektrično fokusiranje (IEF) za određivanje POD izoformi u korenu klijanaca kukuruza

Razdvajanje proteina primenom metode izoelektričnog fokusiranja je rađeno u *Multiphor II* komorama za elektroforezu (*Multiphor II*, GE HealthCare). Elektroodne trake saturisane anodnim 75mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / katodnim 150mM NaOH rastvorom su smeštane na suprotne krajeve poliakrilamidnog gela (PAG), dimenzija 12 x 25 cm, koncentracije 7,5% i pH raspona 2-9. Predfokusiranje u trajanju od 120Vh (30 minuta), radi ravnomerne distribucije amfolita (Servalyte pH 2-9, Serva) u gelu, je izvođeno na 2000V, 50mA i 10W. Uzorci finalne koncentracije proteina od 7µg su nanošeni, nakon završetka predfokusiranja, na papirne aplikatore, na sredinu gela između elektrodnih traka. Fokusiranje proteina je izvođeno na 2000V, 50mA i 15W, u trajanju od 2400Vh (120 minuta). Celokupna procedura izoelektričnog fokusiranja je rađena uz konstantno hlađenje na temperaturi od 5°C.

Sastav gela za izoelektrično fokusiranje (7.5 % poliakrilamidni gel):

H <sub>2</sub> O	7,150ml
30% rastvor akrilamida/bis akrilamida	4,125ml
50% glycerol	4,400ml
Amfoliti (pH 2-9)	1,650ml
10% amonijum persulfat (APS)	0,825ml
TEMED	0,013ml

#### 5.3.5.1 Vizuelizacija peroksidaznih izoformi na gelu za IEF

Po završetku elektroforeze, gel je ispran destilovanom vodom, a zatim inkubiran u substratu (100mM K-fosfatni pufer pH 6,5, 10% metanolni rastvor α-naftola (4-hloro-1-metanol) i 0,03% vodonik peroksid) na sobnoj temperaturi u trajanju od 10 minuta, odnosno do pojave plavih traka na mestima koja odgovaraju peroksidaznim izoformama. Nakon inkubacije, gel je ispiran u destilovanoj vodi.

## 5.4 Karakterizacija genotipova kukuruza SSR molekularnim markerima

Za određivanje genetičke varijabilnosti genotipova *core* kolekcije kukuruza za tolerantnost prema suši, urađena je molekularna karakterizacija primenom SSR molekularnih markera. Analiza je rađena na grupnim uzorcima.

### 5.4.1 Izolacija DNK

Izolacija DNK iz zrna je rađena na odabranom setu od 41-nog genotipa *core* kolekcije kukuruza za tolerantnost prema suši. Po 30 zrna svake populacije i po 12 zrna svake linije je samleveno u kataskaptu, mlinu za pojedinačno mlevenje uzoraka. Od dobijenog, fino samlevenog praha, je uzeto po 250mg tkiva svakog genotipa i prebačeno u ependorf tube. Izolacija DNK je rađena na ledu po izmenjenoj metodi Saghai i Maroof, (1984).

U uzorke tkiva su dodati puferi za izolaciju:

1. 2 x CTAB pufer (2% CTAB; 100mM Tris, pH 8,0; 20mM EDTA, pH 8,0; 1,4M NaCl; 1% PVP; u odnosu 1 : 1 w / v)
2. 1 x CTAB pufer (u odnosu 1 : 2 w / v).

Oba pufera su prethodno bila zagrejana na 65°C.

Sadržaj uzoraka je promešan i inkubiran 30 minuta na 65°C u vodenom kupatilu.

Nakon inkubacije, u uzorke je dodata ista zapremina *Sevag*-ovog reagensa (hloroform-izoamilalkohol 24:1) i sadržaj uzoraka je lagano mešan do stvaranja emulzije.

Uzorci su centrifugirani na 12000 rpm u trajanju od 2 minuta. Po centrifugiranju, supernatant je prebačen u nove ependorf tube i dodate su 1/10 zapremine (supernatanta) 10% CTAB pufera (10% CTAB; 0,7M NaCl) i jedna zapremina (supernatant + CTAB) hloroform-izoamilalkohola. Uzorci su lagano mešani do formiranja emulzije.

Usledilo je centrifugiranje na 12000 rpm u trajanju od 2 minuta. Posle centrifugiranja, supernatant je prebačen u nove ependorf tube i dodata je jedna zapremina (supernatanta) PPT pufera (1% CTAB; 50mM Tris, pH 8,0; 10mM EDTA, pH 8,0). Uzorci su ostavljeni 20 minuta na sobnoj temperaturi radi precipitacije.

Posle završene precipitacije, uzorci su centrifugirani na 12000 rpm u trajanju od 2 minuta, nakon čega je pažljivo odlivena sva tečnost da se pelet ne bi odlepio.

Uzorci su resuspendovani sa 200 $\mu$ l “*high salt*” TE pufera (10mM Tris, pH 8,0; 1mM EDTA, pH 8,0; 1M NaCl) i inkubirani u vodenom kupatilu na 65°C u trajanju od 10 minuta.

Zatim su u uzorke dodate dve zapremine (400 $\mu$ l) hladnog 96% etanola i ostavljeni su da precipitiraju na -20°C u trajanju od 30 minuta.

Nakon toga, uzorci su centrifugirani 15 minuta na 12000 rpm, a tečnost je odlivena.

U uzorke je dodat 1ml hladnog 75% etanola i centrifugirani su na 12000 rpm, 5 minuta. Ovaj postupak je ponavljen dva puta.

Odliven je sav etanol i uzorci su ostavljeni da se prosuše na sobnoj temperaturi.

U zavisnosti od količine, osušeni talog je rastvoren u 20 - 100 $\mu$ l 0,1 x TE pufera (1mM Tris, pH 8,0; 0,1mM EDTA, pH 8,0).

#### 5.4.2 Određivanje koncentracije i kvaliteta DNK

Koncentracija i kvalitet DNK su određivani spektrofotometrijski (spektrofotometar *Shimadzu* UV-1601). Uzorci su razblaženi 1000 puta u 0,1 x TE puferu i merena je apsorbancija na talasnim dužinama  $\lambda=230, 260$  i 280nm.

Koncentracija DNK je izračunata po formuli:

$$C (\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}) = (\text{OD}_{260} \times R \times 50)/1000$$

gde je:

$\text{OD}_{260}$  apsorbancija na talasnoj dužini  $\lambda_{260}$  nm

R razblaženje uzorka

50 koncentracija 50 $\mu$ g  $\mu$ l<sup>-1</sup> koja ima apsorbanciju OD = 1

Čistoća uzorka se procenjuje na osnovu odnosa  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{230}$  i  $\text{OD}_{260} / \text{OD}_{280}$  i ako su ovi odnosi u opsegu 1,8 - 2,0, DNK je dovoljno čista za marker analizu.

Po utvrđivanju koncentracije i kvaliteta, izolovana DNK je do upotrebe čuvana na -20°C.

### 5.4.3 SSR - PCR reakcija

Prikazana je metoda SSR analize zasnovana na umnožavanju genomske DNK, PCR tehnikom po protokolu Taramino i Tangey (1996).

Reakcija amplifikacije se odvijala u 25 $\mu$ l reakcione smeše, koja je sadržala 2 x koncentrovani PCR Master mix, *Fermentas* (0,05U/ $\mu$ l *Taq* DNK polimeraza u reakcionom puferu, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4mM dATP, 0,4mM dCTP, 0,4mM dGTP i 0,4mM dTTP), 0,5 $\mu$ M prajmer (*forward* i *reverse*), 250ng/ $\mu$ l DNK uzorka i sterilnu bidestilovanu vodu, kojom je smeša dopunjena do željene zapremine.

Za SSR analizu su korišćeni komercijalni arbitrarni prajmeri (*forward* i *reverse*), *LKB*, dati u tabeli 3.

Tabela 3. Sekvence korišćenih SSR - PCR prajmera

Prajmer	<i>Forward</i> sekvenca (5' - 3')	<i>Reverse</i> sekvenca (5' - 3')
umc 1013	TAATGTGTCCATACGGTGGTGG	AGCTGGCTAGTCTCAGGCACTC
umc 2047	GACAGACATTCCCTCGCTACCTGAT	CTGCTAGCTACCAAACATTCCGAT
phi 036	CCGTGGAGAGACGTTTGACGT	TCCATCACCCTCAGAATGTCAGTGA
umc 1109	GCAACACAGGACCAAATCATCTCT	GTTCCGGTCCGTAGAAGAACTCTCA
bnlg 589	GGGTCGTTTAGGGAGGCACTTTGGT	GCGACAGACAGACAGACAAGCGCATTGT
bnlg 557	TCACGGGCGTAGAGAGAGA	CGAAGAAACAGCAGGAGATGAC
umc 126	CAACAGGGTGAACCCTCTGTACTT	AATATGGTGTGTTGTGATTTGCATCG
umc 1019	CCAGCCATGTCTTCTCGTTCTT	AAACAAAGCACCATCAATTCGG
phi 085	AGCAGAACGGCAAGGGCTACT	TTTGGCACACCACGACGA
umc 1006	AATCGCTTACTTGTAACCCACTTG	AGTTTCCGAGCTGCTTTCTCT
umc 1393	CCTTCTTCTTATTGTCACCGAACG	GCCGATGAGATCTTTAACAACTG
umc 1324	ATCCATCATCATCATCATTGCTTG	ATGTCATCATGTACCAGGTGTTGG
umc 1944	GAAGAAGGATCGCACACATGG	AGACTGTCGCGCTGTACTATACCC
phi 116	GCATACGGCCATGGATGGGA	TCCCTGCCGGGACTCCTG
phi 080	CACCCGATGCAACTTGCGTAGA	TCGTCACGTTCCACGACATCAC
phi 033	TCGCTCCTCGGCCTATAGTA	GGTGGCAGACCCAAGATTTA
umc 1492	GAGACCCAACCAAACTAATAATCTCTT	CTGCTGCAGACCATTGAAATAAC
bnlg 1526	ACGAGCGAGTGGAGAATAGG	AGCCCAGTACGTGGGGTC



Lančana reakcija polimeraze (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) je rađena na TProfessional Standard Thermocycler-u (*Biometra*), aparatu za PCR, po programu *Touchdown*, koji se sastoji od sledećih koraka:

1. inicijalne denaturacije na 95°C u trajanju od 5 minuta
2. 15 ciklusa denaturacije na 95°C u trajanju od po 30 sekundi
3. 15 ciklusa vezivanja prajmera za ciljne sekvence (*annealing*) na 63,5°C u trajanju od po 1 minut (uz snižavanje temperature za 0,5°C po ciklusu)
4. 15 ciklusa elongacije na 72°C u trajanju od po 1 minut
5. 22 ciklusa denaturacije na 95°C u trajanju od po 30 sekundi
6. 22 ciklusa vezivanja prajmera za ciljne sekvence (*annealing*) na 56°C u trajanju od po 1 minut
7. 22 ciklusa elongacije na 72°C u trajanju od po 1 minut

Po završetku PCR reakcije, uzorcima je dodavan pufer (0,25% brom fenol plavo, 30% glicerol u dd H<sub>2</sub>O).

#### **5.4.4 Poliakrilamidna elektroforeza (PAGE)**

Produkti PCR reakcije su razdvojeni na 8% poliakrilamidnom gelu (30% akrilamid/bisakrilamid u odnosu 29 : 1, 5 x TBE, 10% APS, TEMED i dd H<sub>2</sub>O). Za za izvođenje elektroforeze je korišćen Mini Protean Tetra-cell (*BioRad*), četvero-komorni aparat za vertikalnu poliakrilamidnu elektroforezu.

Po nalivanju, gel je ostavljen da stoji 30 minuta radi polimerizacije. Nakon završene polimerizacije, formirani džepići u gelu su ispirani destilovanom vodom da bi se izbegao uticaj naknadne polimerizacije gela na svom dnu, što bi moglo da utiče na razdvojenost fragmenata i nanešeni su uzorci. Kao marker je korišćen 100 bp DNK ladder, *Fermentas*.

Za elektroforezu je korišćen 1 x TBE pufer (napravljen razblaženjem 5 x TBE pufera - 54g Tris-a, 27g borne kiseline, 20ml 0,5M EDTA, pH 8,0, destilovana voda do finalne zapremine od 1l). Elektroforeza se odvijala pri konstantnoj struji od 40mA, u trajanju od 1 sata i 20 minuta.

Posle završene elektroforeze, gel je prebačen u Petri kutiju, potopljen u rastvor 1 x TBE pufera, uz dodavanje 1 - 2µl EtBr za bojenje i ostavljen na mešalici 20 minuta.

Nakon bojenja, stavljanjem na UV - transiluminator, gel je slikan digitalnim fotoaparatom (*Nikon D60*).

## 5.5 Statistička analiza

### 5.5.1 Statistička analiza poljskih oglada

Uticaj stresa suše u poljskim oglelima na analizirane parametre je predstavljen njihovim prosečnim vrednostima i intervalom variranja ( $\bar{X}$ ,  $X_{\min}$  i  $X_{\max}$ ).

### 5.5.2 Statistička analiza morfoloških i fiziološko-biohemijskih parametara

Analiza svih parametara je rađena u četiri ponavljanja, a rezultati za kontrolnu varijantu i varijantu tretmana svih genotipova kukuruza su prikazani u vidu  $\bar{X} \pm SD$ . Za sve posmatrane parametre je urađena jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA) po kompletno randomiziranom blok dizajnu u MSTAT-C statističkom programu. Za svaki parametar je urađen koeficijent varijacije (%). Značajne razlike između kontrole i tretmana za svaki genotip su određene na osnovu *Fisher*-ovog LSD testa na nivou značajnosti 0.05, a značajnim su se smatrale one sa  $p < 0,05$ .

Uticaj osmotskog stresa je prikazan kao promena prosečnih vrednosti posmatranog parametra za tretman u odnosu na kontrolu kod svakog genotipa (%):

$$\% \text{ promene} = \frac{\bar{X}_T}{\bar{X}_K} * 100$$

Fenotipske korelacije između posmatranih morfoloških i fiziološko-biohemijskih parametara, kao i između posmatranih parametara i prinosa zrna/biljci u polju, su izračunate primenom *Pearson*-ovog koeficijenta korelacije

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

### 5.5.3 Analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis - PCA*)

Grupisanje genotipova kukuruza, na osnovu morfoloških i fiziološko-biohemijskih parametara, je urađeno pomoću faktorske analize glavnih komponentata (multivarijacione ordinatne analize), u *SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version* programu. Rezultati su prikazani u formi 2D dijagrama.

### 5.5.4 Genetička sličnost

Prisustvo / odsustvo traka u SSR analizi je pretvoreno u binarne podatke (0 i 1) koji su korišćeni kao osnovna matrica za izračunavanje genetičke sličnosti (GS) između ispitivanih genotipova kukuruza, po metodi *Jaccard*-a, (1908):

$$GS_{ij} = \frac{a}{a + b + c}$$

*a* - prisustvo trake u oba genotipa (*ij*)

*b* - prisustvo trake kod genotipa *i*, a odsustvo kod genotipa *j*

*c* - prisustvo trake kod genotipa *j*, a odsustvo kod genotipa *i*

#### 5.5.4.1 Klaster analiza

Na osnovu matrica genetičkih sličnosti ispitivanih genotipova kukuruza, urađena je klaster analiza SSR analize, primenom *UPGMA* metode (*unweighted pair-group mean arithmetic method*) u *SAHN* programu (*sequential, agglomerative, hierarchical, and nested clustering method*; Sneath i Sokal, 1973), pomoću *NTSYS-pc2.1* softvera (Rohlf, 2000). Rezultati su prikazani grafički u formi dendrograma. Za svaki dendrogram je izračunat ko-fenetički koeficijent korelacije između matrica genetičkih sličnosti po *Jaccard*-u, a njegova značajnost je testirana *Mantel*-ovim testom, (1967).

#### 5.5.4.2 Korespondenciona analiza

Na osnovu matrica genetičkih sličnosti, urađena je korespondenciona analiza u *SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version* programu, radi potpunijeg sagledavanja genetičke sličnosti ispitivanih genotipova kukuruza *core*-a za tolerantnost na sušu, a prikazana je u formi grafikona u vidu kontinuirane varijabilnosti.

## 6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Testiranje celokupnog genofonda banke gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje“ je izvršeno 2007. godine na lokalitetu poljoprivredne stanice Sids, Egipat (29°5' s.g.š; 30°56' i.g.d), za koji je karakteristično odsustvo padavina za vreme vegetacionog perioda, u kombinaciji sa visokim temperaturama vazduha, zbog čega je bila moguća potpuna kontrola vodnog režima navodnjavanjem. Godina 2007. je bila izuzetno pogodna za testiranje stresa suše, jer je prosečna temperatura u toku vegetacionog perioda (avgust-novembar) bila 28,5°C, dok je u fazi cvetanja iznosila 28,1°C. Na osnovu vizuelnog praćenja sekundarnih osobina relevantnih za stres suše, od ukupno 5806 testiranih genotipova kukuruza, odabran je 571 genotip kao potencijalni izvor tolerantnosti na sušu i testiran 2008. godine u uslovima izrazite suše (isti lokalitet u Egiptu, slika 3), kao i u uslovima umerenog klimata (Zemun Polje, 44°52' s.g.š; 20°20' i.g.d. i Skoplje, 42° s.g.š; 21°26' i.g.d), u cilju konačnog odabira genotipova kukuruza tolerantnih na sušu i adaptiranih na lokalne uslove.

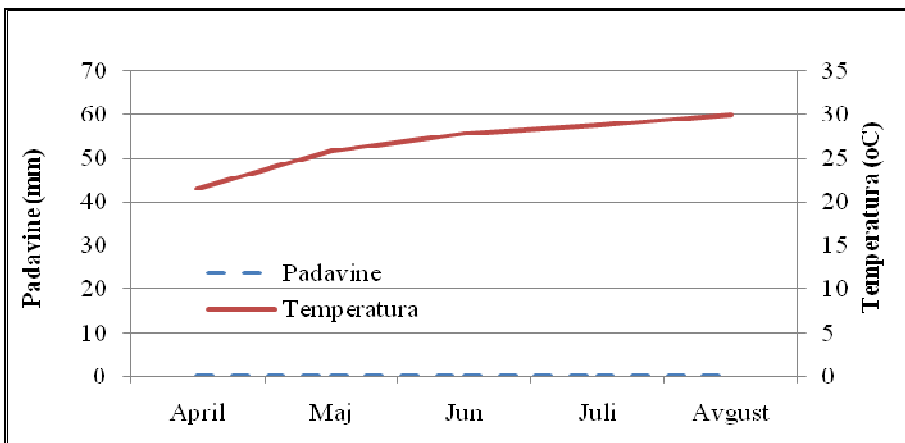


Slika 3. Eksperimentalno polje poljoprivredne stanice Sids (Egipat, 2008)

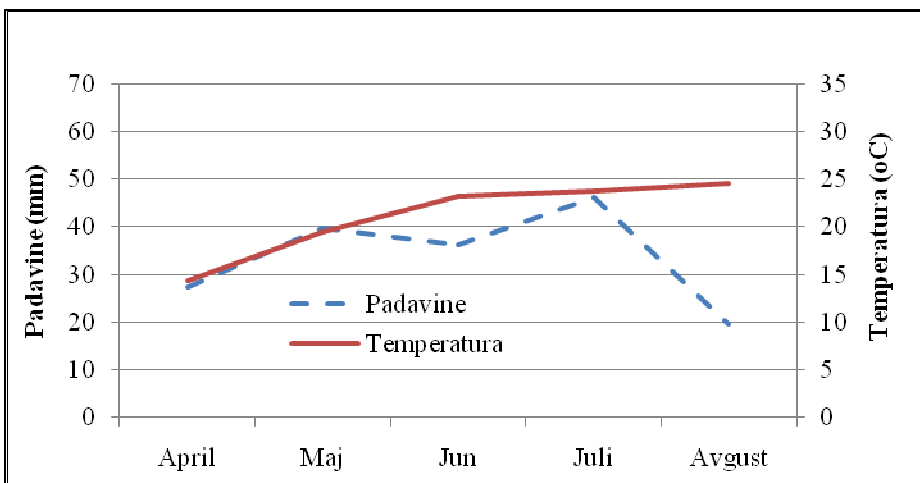
### 6.1 Klimatske prilike u 2008. godini

Prema prosečnim vrednostima sume padavina u toku vegetacionog perioda, kao najsušnija lokacija jasno je izdvojen lokalitet poljoprivredne stanice Sids (Egipat) sa 0,0mm padavina. Prosečna suma padavina u Zemun Polju je bila 33,8mm, dok je u Skoplju bila 40,0mm, a distribucija je prikazana na grafiku 2, 3 i 4.

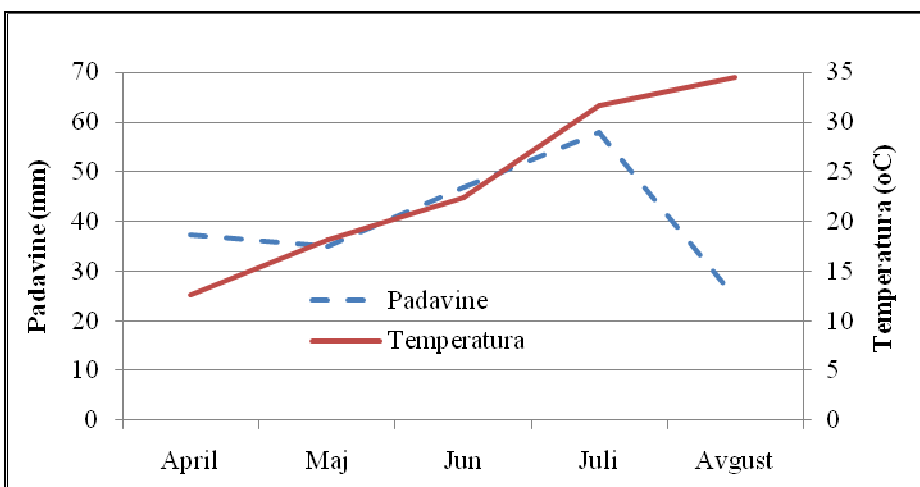
Prosečna vrednost temperature vazduha u toku vegetacionog perioda je bila najviša u Egiptu (26,8°C), dok je u Skoplju bila 23,8°C. Najniža prosečna temperatura vazduha u toku vegetacionog perioda je bila u Zemun Polju (21,1°C).



Grafik 2. Prosečne mesečne temperature i sume padavina u 2008. godini (Egipat)



Grafik 3. Prosečne mesečne temperature i sume padavina u 2008. godini (Zemun Polje)



Grafik 4. Prosečne mesečne temperature i sume padavina u 2008. godini (Skoplje)

## 6.2 Prosečne vrednosti i pokazatelji varijabilnosti

Kvantitativne osobine, kao što su tolerantnost na sušu, prinos i komponente prinosa, su po tipu nasleđivanja poligene osobine i pod velikim su uticajem spoljašnje sredine. Kako se ne može utvrditi pojedinačan doprinos aditivnih gena u ekspresiji ovih osobina, posmatranja je potrebno vršiti na što većem broju genotipova.

Izuzev merenja broja dana između metličanja i svilanja (ASI - *anthesis silking interval*) u fazi cvetanja, ocena genotipova kukuruza je vršena u berbi.

Ocena prinosa u Egiptu za sve genotipove kukuruza je izvršena vizuelnim praćenjem sekundarnih osobina relevantnih za stres suše, dok je u uslovima umerenog klimata (Zemun Polje i Skoplje), ocena prinosa izvršena i na osnovu merljivih parametara koje čine komponente prinosa (težina klipa, težina oklaska i težina zrna).

### 6.2.1 Domaće populacije kukuruza

#### 6.2.1.1 Sekundarne osobine

Prosečna vrednost za broj dana između metličanja i svilanja (ASI) je bila najmanja u Egiptu (1,31 dana), a kretala se u intervalu od -1 (genotip K<sub>5</sub>) do 4 dana (genotip K<sub>8</sub>). U Zemun Polju prosečna vrednost za ASI je bila 1,85 dana i kretala se u intervalu od 0 (genotip K<sub>1</sub>) do 4 dana (genotipovi K<sub>3</sub> i K<sub>7</sub>), dok je u Skoplju bila najveća (2,46) i kretala se u intervalu od 1 dana kod polovine ispitivanih genotipova, do 5 dana (genotip K<sub>8</sub>).

Prosečna vrednost za jalovost biljke je takođe bila najniža u Egiptu (5,72%), a kretala se u intervalu od 0,0% kod više od polovine ispitivanih genotipova, do 28,6% (genotip K<sub>2</sub>). U Zemun Polju prosečna vrednost za jalovost je bila najviša (13,16%), kretala se u intervalu od 0,0% (genotip K<sub>11</sub>) do 29,4% (genotip K<sub>7</sub>), dok je u Skoplju bila 6,97% i kretala se u intervalu od 0,0% kod skoro polovine ispitivanih genotipova, do 38,5% (genotip K<sub>8</sub>).

Prosečna vrednost za ozrjenost klipa u Egiptu je bila 82,69%, a kretala se u intervalu od 70,0% (genotip K<sub>11</sub>) do 100,0% (genotip K<sub>10</sub>). Prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila ista na oba lokaliteta umerenog klimata (87,69%). U Zemun

Polju se kretala u intervalu od 65,0% (genotip K<sub>3</sub>) do 100,0% (genotip K<sub>13</sub>), dok se u Skoplju kretala u intervalu od 70,0% (genotip K<sub>8</sub>) do 95,0% kod polovine ispitivanih genotipova.

Najniža prosečna vrednost za nalivenost zrna od 87,31% je bila u Egiptu, i kretala se u intervalu od 50,0% (genotip K<sub>4</sub>) do 100,0% kod polovine ispitivanih genotipova, dok je u Zemun Polju bila najviša (92,31%), a kretala se u intervalu od 60,0% (genotip K<sub>3</sub>) do 100,0% kod većine genotipova. U Skoplju, prosečna vrednost za nalivenost zrna je iznosila 87,69% i kretala se u intervalu od 70,0% (genotip K<sub>1</sub>) do 95,0% kod pet ispitivanih genotipova.

*Stay green* osobina, sa prosečnom vrednošću od 2,88, je bila najizraženija u Egiptu, krećući se u intervalu od 2 do maksimalnih 5 (genotip K<sub>7</sub>). Najslabije izražen *stay green*, sa prosečnom vrednošću od 1,19, je bio u Zemun Polju, kretao se u intervalu od 1 kod većine genotipova do 2 (genotip K<sub>7</sub>), dok je u Skoplju bio neznatno izraženiji u odnosu na Zemun Polje i sa prosečnom vrednošću od 1,38, a kretao se u intervalu od 1 kod polovine ispitivanih genotipova do 2,5 (genotip K<sub>7</sub>).

#### **6.2.1.2 Prinos i komponente prinosa**

Prosečna vrednost ocene prinosa genotipova u Egiptu, na osnovu praćenja sekundarnih osobina relevantnih za stres suše, je iznosila 3.31, krećući se u intervalu od 2,5 (genotipovi K<sub>4</sub>, K<sub>5</sub> i K<sub>8</sub>) do 4 kod blizu polovine ispitivanih genotipova kukuruza.

Prosečna težina klipa po genotipu je bila veća u Zemun Polju (1962,31g) u odnosu na Skoplje (1523,85g), respektivno. Najmanja težina klipa na obe lokacije je izmerena kod genotipa K<sub>2</sub> (1290g, Zemun Polje), odnosno 690g (Skoplje). Najveća težina klipa je izmerena kod genotipa K<sub>11</sub> (2760g, Zemun Polje), a u Skoplju kod genotipa K<sub>10</sub> (2940g).

Prosečna težina oklaska po genotipu je bila manja u Zemun Polju (339,23g) u odnosu na Skoplje (352,31g), respektivno. Najmanja težina oklaska na obe lokacije je izmerena takođe kod genotipa K<sub>2</sub> (190g, Zemun Polje), odnosno 160g (Skoplje). Najveća težina oklaska je izmerena kod genotipa K<sub>11</sub> (470g, Zemun Polje), a u Skoplju kod genotipa K<sub>10</sub> (660g).

Prosečna težina zrna po genotipu je bila veća u Zemun Polju (1962,31g) u odnosu na Skoplje (1523,85g), respektivno. U Zemun Polju, težina zrna se kretala u intervalu od 1080g (genotip K<sub>12</sub>) do 2290g (genotip K<sub>11</sub>), a u Skoplju od 520g (genotip K<sub>1</sub>) do 2290g (genotip K<sub>10</sub>).

Prosečan prinos / biljci je bio veći u Zemun Polju (95,57g / biljci) u odnosu na Skoplje (75,39g / biljci), respektivno. U Zemun Polju se kretao u intervalu od 67,5g / biljci (genotip K<sub>12</sub>) do 135,0g / biljci (genotip K<sub>7</sub>), a u Skoplju od 35,3g / biljci (genotip K<sub>1</sub>) do 127,2g / biljci (genotip K<sub>10</sub>). Rezultati su prikazani u tabeli 4, 5 i 6.



Tabela 4. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina domaćih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Egipat)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	OPB
I GRUPA - EKSTRA RANI	K <sub>11</sub>	1	0,0	70,0	100,0	3	3
	K <sub>12</sub>	1	0,0	85,0	100,0	3	4
	K <sub>13</sub>	1	0,0	90,0	100,0	3,5-4	4
II GRUPA - RANI	K <sub>2</sub>	1	28,6	80,0	100,0	4	4
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	K <sub>1</sub>	1	0,0	90,0	100,0	2,5	3,5
	K <sub>3</sub>	2	13,3	80,0	80,0	2,5	3
	K <sub>4</sub>	2	7,7	70,0	50,0	2	2,5
	K <sub>5</sub>	-1	5,9	80,0	80,0	2	2,5
	K <sub>6</sub>	1	11,8	80,0	80,0	3	3
	K <sub>8</sub>	4	0,0	80,0	90,0	2	2,5
	K <sub>9</sub>	0	0,0	90,0	85,0	2,5	3
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	K <sub>10</sub>	3	0,0	100,0	100,0	3	4
V GRUPA - KASNI	K <sub>7</sub>	1	7,1	80,0	70,0	5	4
	$\bar{X}$	1,31	5,72	82,69	87,31	2,88	3,31
	X <sub>min</sub>	-1	0,0	70,0	50,0	2,0	2,5
	X <sub>max</sub>	4	28,6	100,0	100,0	5,0	4,0

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; OPB - ocena prinosa u berbi

Tabela 5. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina domaćih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Zemun Polje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g/genotipu)	PRINOS (g/biljci)	
I GRUPA - EKSTRA RANI	K <sub>11</sub>	2	0,0	95,0	100,0	1,5	2760	470	2290	114,5	
	K <sub>12</sub>	1	15,8	85,0	90,0	1	1300	220	1080	67,5	
	K <sub>13</sub>	3	5,0	100,0	100,0	1	1960	330	1630	85,8	
II GRUPA - RANI	K <sub>2</sub>	1	20,0	85,0	90,0	1	1290	190	1100	68,8	
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	K <sub>1</sub>	0	9,5	95,0	100,0	1	2020	460	1560	82,1	
	K <sub>3</sub>	4	25,0	65,0	60,0	1	1490	230	1260	84,0	
	K <sub>4</sub>	3	15,0	70,0	75,0	1	1630	270	1360	80,0	
	K <sub>5</sub>	1	10,0	95,0	100,0	1	1690	270	1420	78,9	
	K <sub>6</sub>	1	10,5	90,0	100,0	1	2150	350	1800	105,9	
	K <sub>8</sub>	2	5,0	90,0	90,0	85,0	1,5	2410	470	1940	102,1
	K <sub>9</sub>	1	10,0	90,0	90,0	100,0	1	2480	360	2120	117,8
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	K <sub>10</sub>	1	15,8	90,0	100,0	1,5	2380	460	1920	120,0	
V GRUPA - KASNI	K <sub>7</sub>	4	29,4	90,0	100,0	2	1950	330	1620	135,0	
	$\bar{X}$	1,85	13,16	87,69	92,31	1,19	1962,31	339,23	1623,08	95,57	
	X <sub>min</sub>	0	0,0	65,00	60,0	1	1290	190	1080	67,5	
	X <sub>max</sub>	4	29,4	100,0	100,0	2	2760	470	2290	135,0	

Legenda: ASI - broj dana između metličenja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna

Tabela 6. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina domaćih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Skoplje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g)	PRINOS (g/biljci)
I GRUPA - EKSTRA RANI	K <sub>11</sub>	1	11,8	80,0	90,0	1,5	1410	380	1030	68,7
	K <sub>12</sub>	1	5,3	95,0	95,0	1	1300	270	1040	57,8
	K <sub>13</sub>	1	5,0	95,0	95,0	2,5	1850	370	1480	77,9
II GRUPA - RANI	K <sub>2</sub>	2	0,0	90,0	90,0	1	690	160	530	35,3
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	K <sub>1</sub>	3	17,6	80,0	70,0	1,5	720	200	520	37,1
	K <sub>3</sub>	4	12,5	75,0	80,0	1	1370	390	980	70,0
	K <sub>4</sub>	3	0,0	95,0	90,0	1	1700	360	1340	74,4
	K <sub>5</sub>	3	0,0	90,0	90,0	1	1490	380	1120	74,3
	K <sub>6</sub>	1	0,0	95,0	95,0	1	1350	260	1090	60,6
	K <sub>8</sub>	5	38,5	70,0	75,0	1,5	880	280	600	75,0
	K <sub>9</sub>	2	0,0	85,0	80,0	1	2510	460	2040	113,6
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	K <sub>10</sub>	3	0,0	95,0	95,0	1,5	2940	660	2290	127,2
V GRUPA - KASNI	K <sub>7</sub>	3	0,0	95,0	95,0	2,5	1600	410	1190	108,2
	$\bar{X}$	2,46	6,97	87,69	87,69	1,38	1523,85	352,31	1173,08	75,39
	X <sub>min</sub>	1	0,0	70,0	70,0	1	690	160	520	35,3
	X <sub>max</sub>	5	38,5	95,0	95,0	2,5	2940	660	2290	127,2

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna

## 6.2.2 Introdokovane populacije kukuruza

### 6.2.2.1 Sekundarne osobine

Prosečna vrednost za broj dana između metličanja i svilanja (ASI) je bila najmanja u Egiptu (2,38), a kretala se u intervalu od 0 dana (genotipovi P<sub>4</sub>, P<sub>7</sub> i P<sub>8</sub>) do 7 dana (genotipovi P<sub>1</sub> i P<sub>12</sub>). U Zemun Polju, prosečna vrednost za ASI je bila najveća (2,92), i kretala se u intervalu od 0 dana (genotip P<sub>9</sub>) do 9 dana (genotip P<sub>7</sub>), dok je u Skoplju bila 2,69 i kretala se u intervalu od 0 dana (genotip P<sub>11</sub>) do 4 dana (genotip P<sub>7</sub>).

Prosečna vrednost za jalovost biljke je takođe bila najniža u Egiptu (4,41%), a kretala se u intervalu od 0,0% kod više od polovine ispitivanih genotipova, do 22,2% (genotip P<sub>8</sub>). U Zemun Polju, prosečna vrednost za jalovost je bila 9,72%, kretala se u intervalu od 5,0% (genotipovi P<sub>8</sub>, P<sub>11</sub> i P<sub>12</sub>) do 20,0% (genotipovi P<sub>3</sub> i P<sub>13</sub>), dok je u Skoplju je bila najviša (10,35%), a kretala se u intervalu od 0,0% (genotipovi P<sub>4</sub> i P<sub>10</sub>) do takođe 20,0% (genotip P<sub>6</sub>).

Prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila najveća u Egiptu (93,08%), a kretala se u intervalu od 80,0% (genotip P<sub>2</sub>) do 100,0% (genotipovi P<sub>7</sub>, P<sub>10</sub> i P<sub>13</sub>). U Zemun Polju, prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila 90,38% i kretala se u intervalu od 75,0% (genotip P<sub>13</sub>) do 100,0% (genotipovi P<sub>7</sub>, P<sub>10</sub> i P<sub>12</sub>). Najmanja prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila u Skoplju (89,62%), i kretala se u intervalu od 80,0% (genotipovi P<sub>8</sub> i P<sub>13</sub>) do 100,0% (genotip P<sub>10</sub>).

Najviša prosečna vrednost za nalivenost zrna od 95,38% je bila u Egiptu, i kretala se u intervalu od 80,0% (genotip P<sub>8</sub>) do 100,0% kod više od polovine ispitivanih genotipova. U Zemun Polju, prosečna vrednost za nalivenost zrna je bila nešto niža (94,62%), kretala se u intervalu od 80,0% (genotip P<sub>13</sub>) do 100,0% kod skoro polovine ispitivanih genotipova, dok je u Skoplju bila najniža (87,69%) i kretala se u intervalu od 80,0% (genotipovi P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, P<sub>3</sub> i P<sub>13</sub>) do 100,0% kod genotipa P<sub>10</sub>.

*Stay green* osobina sa prosečnom vrednošću od 2,81 je bila najizraženija u Egiptu, krećući se u intervalu od 1,5 do maksimalnih 5 (genotip P<sub>7</sub>). Najslabije izražen *stay green*, sa prosečnom vrednošću od 1,54 je bio u Zemun Polju, kretao se u intervalu od 1 kod većine genotipova do 3,5 (genotip P<sub>7</sub>), dok je u Skoplju bio neznatno izraženiji u odnosu na Zemun Polje, sa prosečnom vrednošću od 1,77 i kretao se u intervalu od 1, kod skoro polovine ispitivanih genotipova, do 3,5, takođe kod genotipa P<sub>7</sub>.

### 6.2.2.2 Prinos i komponente prinosa

Prosečna vrednost ocene prinosa, na osnovu praćenja sekundarnih osobina relevantnih za stres suše u Egiptu, je iznosila 3,5, krećući se u intervalu od 2,0 (genotipovi P<sub>5</sub> i P<sub>8</sub>) do 4,5 kod genotipova P<sub>6</sub> i P<sub>7</sub>.

Prosečna težina klipa po genotipu je bila veća u Zemun Polju (2229,23g) u odnosu na Skoplje (1716,15g), respektivno. Najmanja težina klipa na obe lokacije je izmerena kod genotipa P<sub>5</sub> (1490g, Zemun Polje), odnosno 970g (Skoplje). Najveća težina klipa na oba lokaliteta je izmerena kod genotipa P<sub>11</sub> (3150g u Zemun Polju, a u Skoplju 2640g).

Prosečna težina oklasa po genotipu je bila manja u Zemun Polju (356,92g) u odnosu na Skoplje (387,69g), respektivno. Najmanja težina oklasa na obe lokacije je izmerena takođe kod genotipa P<sub>5</sub> (190g u Zemun Polju, odnosno 230g u Skoplju). Najveća težina oklasa na obe lokacije je izmerena kod genotipa P<sub>6</sub> (570g u Zemun Polju, odnosno 560g u Skoplju).

Prosečna težina zrna po genotipu je bila veća u Zemun Polju (1872,31g) u odnosu na Skoplje (1330,77g), respektivno. Najmanja težina zrna na obe lokacije je izmerena takođe kod genotipa P<sub>5</sub> (1300g u Zemun Polju, odnosno 740g u Skoplju). Najveća težina zrna na obe lokacije je izmerena kod genotipa P<sub>11</sub> (2670g u Zemun Polju, odnosno 2110g u Skoplju).

Prosečan prinos / biljci je bio veći u Zemun Polju (105,28g / biljci) u odnosu na Skoplje (93,36g / biljci), respektivno. Najmanji prinos zrna / biljci na obe lokacije je izmeren kod genotipa P<sub>5</sub> (72,5g / biljci u Zemun Polju, odnosno 43,5g / biljci u Skoplju). Najveći prinos / biljci na obe lokacije je izmeren kod genotipa P<sub>11</sub> (140,5g / biljci u Zemun Polju, odnosno 140,7g / biljci u Skoplju).

Rezultati su prikazani u tabeli 7, 8 i 9.

Tabela 7. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina introdukovanih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Egipat)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	OPB
I GRUPA - EKSTRA RANI	P <sub>4</sub>	0	10,5	95,0	95,0	3	3,5
	P <sub>5</sub>	1	4,8	95,0	100,0	1,5	2
II GRUPA - RANI	P <sub>9</sub>	1	0,0	95,0	100,0	2	3,5
	P <sub>12</sub>	7	0,0	85,0	90,0	4	4
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	P <sub>1</sub>	7	0,0	90,0	90,0	2,5	3,5
	P <sub>2</sub>	1	0,0	80,0	100,0	3	4
	P <sub>3</sub>	2	10,0	90,0	100,0	2	3,5
	P <sub>6</sub>	5	4,8	95,0	100,0	3	4,5
	P <sub>8</sub>	0	22,2	95,0	80,0	2	2
	P <sub>11</sub>	3	0,0	90,0	90,0	3	3,5
	P <sub>13</sub>	1	0,0	100,0	100,0	3	4
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	P <sub>7</sub>	0	0,0	100,0	95,0	5	4,5
	P <sub>10</sub>	3	5,0	100,0	100,0	2,5	3
	$\bar{X}$	2,38	4,41	93,08	95,38	2,81	3,50
	X <sub>min</sub>	0	0,0	80,0	80,0	1,5	2,0
	X <sub>max</sub>	7	22,2	100,0	100,0	5,0	4,5

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; OPB - ocena prinosa u berbi

Tabela 8. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina introdukovanih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Zemun Polje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g/genotipu)	PRINOS (g/biljci)
I GRUPA - EKSTRA RANI	P <sub>4</sub>	2	5,3	95,0	95,0	1	1700	290	1410	78,3
	P <sub>5</sub>	2	5,3	90,0	95,0	1	1490	190	1300	72,2
II GRUPA – RANI	P <sub>9</sub>	0	10,0	90,0	95,0	2	2360	410	1950	108,3
	P <sub>12</sub>	3	5,0	100,0	100,0	1	2140	270	1870	98,4
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	P <sub>1</sub>	2	15,0	80,0	90,0	1	2220	300	1920	112,9
	P <sub>2</sub>	3	5,3	80,0	90,0	1	1750	300	1450	80,6
	P <sub>3</sub>	2	20,0	90,0	100,0	1	2300	320	1980	123,8
	P <sub>6</sub>	1	10,0	90,0	90,0	2	2870	570	2300	127,8
	P <sub>8</sub>	3	5,0	90,0	90,0	1,5	2720	460	2260	118,9
	P <sub>11</sub>	3	5,0	95,0	100,0	2,5	3150	480	2670	140,5
	P <sub>13</sub>	5	20,0	75,0	80,0	1	1980	370	1610	100,6
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	P <sub>7</sub>	9	10,5	100,0	100,0	3,5	1930	320	1610	94,7
	P <sub>10</sub>	3	10,0	100,0	100,0	1,5	2370	360	2010	111,7
	$\bar{X}$	2,92	9,72	90,38	94,62	1,54	2229,23	356,92	1872,31	105,28
	X <sub>min</sub>	0	5,0	75,0	80,0	1	1490	190	1300	72,2
	X <sub>max</sub>	9	20,0	100,0	100,0	3,5	3150	570	2670	140,5

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna

Tabela 9. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina introdukovanih populacija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Skoplje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g/genotipu)	PRINOS (g/biljci)
I GRUPA - EKSTRA RANI	P <sub>4</sub>	3	0,0	90,0	90,0	1	1080	260	820	51,3
	P <sub>5</sub>	3	5,6	90,0	95,0	1	970	230	740	43,5
II GRUPA – RANI	P <sub>9</sub>	2	11,1	90,0	90,0	2	1190	270	920	57,5
	P <sub>12</sub>	3	6,3	95,0	90,0	2,5	1490	280	1220	81,3
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	P <sub>1</sub>	1	18,8	90,0	80,0	1	1760	360	1400	107,7
	P <sub>2</sub>	3	6,3	85,0	80,0	1,5	1390	330	1070	71,3
	P <sub>3</sub>	3	12,5	90,0	80,0	1	2450	560	1890	135,0
	P <sub>6</sub>	4	20,0	90,0	90,0	2	2150	560	1590	132,5
	P <sub>8</sub>	3	14,3	80,0	85,0	1	1370	310	1060	88,3
	P <sub>11</sub>	0	16,7	95,0	90,0	3	2640	530	2110	140,7
	P <sub>13</sub>	3	5,6	80,0	80,0	2	2330	520	1810	106,5
IV GRUPA - SREDNJE-KASNI	P <sub>7</sub>	4	17,6	90,0	90,0	3,5	1780	450	1330	95,0
	P <sub>10</sub>	3	0,0	100,0	100,0	1,5	1710	380	1340	103,1
	$\bar{X}$	2,69	10,35	89,62	87,69	1,77	1716,15	387,69	1330,77	93,36
	X <sub>min</sub>	0	0,0	80,0	80,0	1	970	230	740	43,5
	X <sub>max</sub>	4	20,0	100,0	100,0	3,5	2640	560	2110	140,7

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna



## 6.2.3 Introdukovane inbred linije kukuruza

### 6.2.3.1 Sekundarne osobine

Prosečna vrednost za broj dana između metličanja i svilanja (ASI) u Egiptu je bila 1,67 dana, a kretala se u intervalu od -1 dana (genotipovi L<sub>7</sub> i L<sub>15</sub>) do 5 dana (genotip P<sub>10</sub>). Najmanja prosečna vrednost za ASI izmerena je u Zemun Polju (1,33 dana), kretala se u intervalu od 0 dana (genotipovi L<sub>7</sub>, L<sub>10</sub> i L<sub>13</sub>) do 3 dana (genotip L<sub>4</sub>), dok je u Skoplju bila najveća (2 dana), krećući se u intervalu od 0 dana (genotip L<sub>5</sub>) do 5 dana (genotip L<sub>13</sub>).

Prosečna vrednost za jalovost biljke je bila najniža u Egiptu (5,05%), a kretala se u intervalu od 0,0% kod većine ispitivanih genotipova, do 23,5% (genotip L<sub>14</sub>). U Zemun Polju, prosečna vrednost za jalovost biljke je bila najveća (6,46%), kretala se u intervalu od 0,0% kod skoro polovine ispitivanih genotipova, do 30,0% (genotip L<sub>5</sub>), dok je u Skoplju je bila 5,56%, krećući se u intervalu od 0,0% kod većine genotipova, do 22,2% (genotip L<sub>13</sub>).

Prosečna vrednost za ozrjenost klipa u Egiptu je bila 83,67%, a kretala se u intervalu od 60,0% (genotip L<sub>4</sub>) do 100,0% (genotip L<sub>3</sub>). U Zemun Polju, prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila najveća (91,00%), kretala se u intervalu od 60,0% (genotip L<sub>6</sub>) do 100,0% kod više od polovine ispitivanih genotipova. Najmanja prosečna vrednost za ozrjenost klipa je bila u Skoplju (78,67%), krećući se u intervalu od 20,0% (genotip L<sub>1</sub>) do 100,0% (genotipovi L<sub>3</sub> i L<sub>5</sub>).

Prosečna vrednost za nalivenost zrna u Egiptu je bila 88,33% i kretala se u intervalu od 50,0% (genotip L<sub>13</sub>) do 100,0% kod skoro polovine ispitivanih genotipova. U Zemun Polju, prosečna vrednost za nalivenost zrna je bila najveća (94,67%), kretala se u intervalu od 60,0% (genotip L<sub>6</sub>) do 100,0% kod većine ispitivanih genotipova, dok je u Skoplju bila najniža (81,00%), krećući se u intervalu od 60,0% (genotip L<sub>6</sub>) do 100,0% (genotipovi L<sub>3</sub> i L<sub>5</sub>).

*Stay green* osobina, sa prosečnom vrednošću od 2,53, je bila najizraženija u Egiptu, krećući se u intervalu od 1,5 do 4,5 (genotip L<sub>1</sub>). Najslabije izražen *stay green*, sa prosečnom vrednošću od 1,60 je bio u Zemun Polju, kretao se u intervalu od 1 kod više od polovine ispitivanih genotipova do 3,5 (genotipovi L<sub>1</sub> i L<sub>2</sub>), dok je u Skoplju bio

neznatno izraženiji u odnosu na Zemun Polje sa prosečnom vrednošću od 1,80 i kretao se u intervalu od 1 do 4,0 kod genotipa L<sub>1</sub>.

### 6.2.3.2 Prinos i komponente prinosa

Prosečna vrednost ocene prinosa, na osnovu praćenja sekundarnih svojstava relevantnih za stres suše u Egiptu, je iznosila 3,5, krećući se u intervalu od 3,0 kod polovine ispitivanih genotipova, do 5,0 kod genotipa L<sub>1</sub>.

Prosečna težina klipa po genotipu je bila veća u Zemun Polju (1678,0g) u odnosu na Skoplje (1018,0g), respektivno. Najmanja težina klipa na obe lokacije je izmerena kod genotipa L<sub>9</sub> (760g, Zemun Polje), odnosno 400g (Skoplje). Najveća težina klipa na oba lokaliteta je izmerena kod genotipa L<sub>3</sub> (3280g u Zemun Polju, a u Skoplju 2840g).

Prosečna težina oklaska po genotipu je bila veća u Zemun Polju (270,67g) u odnosu na Skoplje (262,00g), respektivno. Najmanja težina oklaska na obe lokacije je izmerena takođe kod genotipa L<sub>9</sub> (120g u Zemun Polju, odnosno 100g u Skoplju). Najveća težina oklaska na obe lokacije je izmerena kod genotipa L<sub>3</sub> (530g u Zemun Polju, odnosno 650g u Skoplju).

Prosečna težina zrna po genotipu je bila značajno veća u Zemun Polju (1407,33g) u odnosu na Skoplje (757,33g), respektivno. Najmanja težina zrna na obe lokacije je izmerena takođe kod genotipa L<sub>9</sub> (640g u Zemun Polju, odnosno 300g u Skoplju). Najveća težina zrna na obe lokacije je izmerena kod genotipa L<sub>3</sub> (2750g u Zemun Polju, odnosno 2200g u Skoplju).

Prosečan prinos / biljci je bio veći u Zemun Polju (79,38g) u odnosu na Skoplje (60,31g / biljci), respektivno. Najmanji prinos zrna / biljci u Zemun Polju je izmeren kod genotipa L<sub>4</sub> (45,0g / biljci), a u Skoplju, kod genotipa L<sub>13</sub> (23,6g / biljci). Najveći prinos / biljci na obe lokacije, je izmeren kod genotipa L<sub>3</sub> (144,7g / biljci u Zemun Polju, odnosno 169,2g / biljci u Skoplju).

Rezultati su prikazani u tabeli 10, 11 i 12.

Tabela 10. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina introdukovanih inbred linija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Egipat)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	OPB
II GRUPA - RANI	L <sub>6</sub>	1	16,7	70,0	90,0	2,5	4
	L <sub>11</sub>	1	20,0	70,0	100,0	2	3
	L <sub>13</sub>	2	5,6	85,0	50,0	2	3
	L <sub>14</sub>	4	23,5	90,0	100,0	3,5	4
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	L <sub>1</sub>	3	0,0	95,0	100,0	4,5	5
	L <sub>2</sub>	1	0,0	95,0	100,0	3	4
	L <sub>3</sub>	1	0,0	100,0	100,0	3	3,5
	L <sub>4</sub>	1	0,0	60,0	60,0	2	3
	L <sub>5</sub>	2	0,0	80,0	100,0	2	3
	L <sub>7</sub>	-1	0,0	95,0	80,0	1,5	3
	L <sub>8</sub>	2	0,0	80,0	80,0	1,5	3
	L <sub>9</sub>	1	0,0	80,0	90,0	1,5	3
	L <sub>10</sub>	5	0,0	95,0	100,0	2,5	4
	L <sub>12</sub>	3	10,0	80,0	90,0	4	4
	L <sub>15</sub>	-1	0,0	80,0	85,0	2,5	3
	$\bar{X}$	1,67	5,05	83,67	88,33	2,53	3,50
	X <sub>min</sub>	-1	0,0	60,0	50,0	1,5	3
	X <sub>max</sub>	5	23,5	100,0	100,0	4,5	5

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; OB - ocena prinosa u berbi

Tabela 11. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih osobina introdukovanih inbred linija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Zemun Polje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g/genotipu)	PRINOS (g/biljci)
II GRUPA - RANI	L <sub>6</sub>	1	21,1	60,0	60,0	1	1110	150	960	64,0
	L <sub>11</sub>	1	0,0	90,0	100,0	2	1670	240	1430	68,1
	L <sub>13</sub>	0	5,0	70,0	70,0	2	1150	230	920	48,4
	L <sub>14</sub>	1	0,0	100,0	100,0	1	1380	270	1110	55,5
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	L <sub>1</sub>	2	15,8	90,0	100,0	3,5	1630	310	1320	82,5
	L <sub>2</sub>	2	0,0	100,0	100,0	3,5	2920	400	2520	126,0
	L <sub>3</sub>	2	5,0	100,0	100,0	1	3280	530	2750	144,7
	L <sub>4</sub>	3	0,0	80,0	100,0	1	970	160	810	45,0
	L <sub>5</sub>	1	30,0	90,0	95,0	1	1240	210	1030	73,6
	L <sub>7</sub>	0	5,0	95,0	100,0	1	2440	400	2040	107,4
	L <sub>8</sub>	2	10,0	100,0	100,0	1	1150	200	950	52,8
	L <sub>9</sub>	2	0,0	100,0	100,0	1	760	120	640	80,0
	L <sub>10</sub>	0	0,0	100,0	95,0	1	1660	250	1410	78,3
	L <sub>12</sub>	2	5,0	90,0	100,0	1,5	1560	280	1280	67,4
	L <sub>15</sub>	1	0,0	100,0	100,0	2,5	2250	310	1940	97,0
	$\bar{X}$	1,33	6,46	91,00	94,67	1,60	1678,0	270,67	1407,33	79,38
	X <sub>min</sub>	0	0,0	60,0	60,0	1	760	120	640	45,0
	X <sub>max</sub>	3	30,0	100,0	100,0	3,5	3280	530	2750	144,7

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna

Tabela 12. Prosečne vrednosti i intervali variranja ispitivanih svojstava introdukovanih inbred linija kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost na sušu (Skoplje)

	Genotip	ASI	JAL	OZ	NAL	SGB	TK (g/genotipu)	TO (g/genotipu)	TZ (g/genotipu)	PRINOS (g/biljci)
II GRUPA - RANI	L <sub>6</sub>	1	13,3	60,0	60,0	1,5	650	180	470	36,2
	L <sub>11</sub>	1	18,2	90,0	90,0	2	470	100	380	42,2
	L <sub>13</sub>	5	22,2	60,0	70,0	2	480	150	330	23,6
	L <sub>14</sub>	3	5,6	90,0	80,0	1,5	700	160	540	31,8
III GRUPA - SREDNJE-STASNI	L <sub>1</sub>	1	0,0	20,0	70,0	4	920	580	340	42,5
	L <sub>2</sub>	2	18,2	80,0	80,0	3,5	1300	290	1010	112,2
	L <sub>3</sub>	2	0,0	100,0	100,0	1,5	2840	650	2200	169,2
	L <sub>4</sub>	2	0,0	90,0	80,0	1	500	110	390	32,5
	L <sub>5</sub>	0	0,0	100,0	100,0	1	900	170	730	73,0
	L <sub>7</sub>	2	5,9	80,0	70,0	1	1550	330	1210	75,6
	L <sub>8</sub>	3	0,0	90,0	80,0	1	950	220	740	41,1
	L <sub>9</sub>	2	0,0	80,0	80,0	1	400	100	300	33,3
	L <sub>10</sub>	1	0,0	85,0	90,0	1,5	1020	210	810	50,6
	L <sub>12</sub>	2	0,0	70,0	80,0	2	1090	300	790	60,8
	L <sub>15</sub>	3	0,0	85,0	85,0	2,5	1500	380	1120	80,0
	$\bar{X}$	2,00	5,56	78,67	81,00	1,80	1018,00	262,00	757,33	60,31
	X <sub>min</sub>	0	0	20,0	60,0	1	400	100	300	23,6
	X <sub>max</sub>	5	22,2	100,0	100,0	4	2840	650	2200	169,2

Legenda: ASI - broj dana između metličanja i svilanja; JAL - % jalovih biljaka; OZ - % ozrjenosti klipa; NAL - % nalivenosti zrna; SGB - *stay green* u berbi; TK - težina klipa; TO - težina oklasaka; TZ - težina zrna

### 6.3 Određivanje pripadnosti različitim heterotičnim grupama kukuruza

Heterotične grupe su odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju dobijanja što boljih performansi hibrida dobijenih u različitim ukrštanjima populacija.

Odabran 51 genotip kukuruza iz 2008. godine, je ukršten sa tri različita testera koji pripadaju različitim heterotičnim grupama (*BSSS*, *Lancaster* i nezavisna), u cilju utvrđivanja njihove relativne genetičke udaljenosti u odnosu na korišćene testere.

Istovremeno sa testiranjem pripadnosti genotipova određenim heterotičnim grupama, u toku 2009-te i 2010-te godine je izvršeno i testiranje opšte kombinacione sposobnosti ukrštanja genotipova sa odabranim testerima, na lokalitetima Zemun Polje (slika 4) i Skoplje.



Slika 4. Testiranje kombinacione sposobnosti kukuruza (Zemun Polje, 2009)

Na osnovu testiranja kombinacione sposobnosti (Anđelković i sar., 2010), izdvojen je 41 genotip, kao najtolerantniji na sušu i dobre kombinacione sposobnosti - 13 domaćih populacija, 13 introdukovanih populacija i 15 introdukovanih inbred linija kukuruza.

Od izuzetnog značaja je bilo izdvajanje 6 genotipova kukuruza ( $K_4$ ,  $P_2$ ,  $P_7$ ,  $P_8$ ,  $L_3$  i  $L_8$ ) koji ne pripadaju ni jednoj od tri heterotične grupe, a koji su imali dobru kombinacionu sposobnost sa sva tri korišćena heterotična izvora, čineći tako nov, sasvim različit izvor poželjne germplazme (tabela 13).

Tabela 13. Genetičko poreklo i kombinaciona sposobnost genotipova core kolekcije za tolerantnost na sušu (Zemun Polje i Skoplje; Anđelković i sar., 2010)

Genetičko poreklo	Genotip	Broj genotipova	Dobra OKS sa
B	K <sub>2</sub>	1	L, nezavisno
L	K <sub>6</sub>		B, nezavisno
L	K <sub>7</sub>		B, nezavisno
L	K <sub>9</sub>		B, nezavisno
L	P <sub>1</sub>		B, nezavisno
L	P <sub>6</sub>		B, nezavisno
L	P <sub>10</sub>	11	B, nezavisno
L	P <sub>13</sub>		B, nezavisno
L	L <sub>4</sub>		B, nezavisno
L	L <sub>6</sub>		B, nezavisno
L	L <sub>11</sub>		B, nezavisno
L	L <sub>14</sub>		B, nezavisno
L, B	K <sub>8</sub>		nezavisno
L, B	P <sub>3</sub>		nezavisno
L, B	P <sub>11</sub>		nezavisno
L, B	P <sub>12</sub>	7	nezavisno
L, B	L <sub>1</sub>		nezavisno
L, B	L <sub>12</sub>		nezavisno
L, B	L <sub>13</sub>		nezavisno
<b>nepoznato</b>	<b>K<sub>4</sub></b>		<b>B, L, nezavisno</b>
<b>nepoznato</b>	<b>P<sub>2</sub></b>		<b>B, L, nezavisno</b>
<b>nepoznato</b>	<b>P<sub>7</sub></b>	<b>6</b>	<b>B, L, nezavisno</b>
<b>nepoznato</b>	<b>P<sub>8</sub></b>		<b>B, L, nezavisno</b>
<b>nepoznato</b>	<b>L<sub>3</sub></b>		<b>B, L, nezavisno</b>
<b>nepoznato</b>	<b>L<sub>8</sub></b>		<b>B, L, nezavisno</b>
Nezavisno	K <sub>5</sub>		L, B
Nezavisno	K <sub>10</sub>		L, B
Nezavisno	K <sub>11</sub>	<b>6</b>	L, B
Nezavisno	L <sub>5</sub>		L, B
Nezavisno	L <sub>7</sub>		L, B
Nezavisno	L <sub>9</sub>		L, B
Nezavisno, B	L <sub>10</sub>	2	L
Nezavisno, B	L <sub>15</sub>		L
Nezavisno, L	K <sub>1</sub>		B
Nezavisno, L	K <sub>3</sub>		B
Nezavisno, L	K <sub>12</sub>		B
Nezavisno, L	K <sub>13</sub>	8	B
Nezavisno, L	P <sub>4</sub>		B
Nezavisno, L	P <sub>5</sub>		B
Nezavisno, L	P <sub>9</sub>		B
Nezavisno, L	L <sub>2</sub>		B

OKS - opšta kombinaciona sposobnost

#### 6.4 Odgovor biljke kukuruza na simulirani stres suše

U okviru karakterizacije odabranih genotipova *core* kolekcije za tolerantnost prema suši, ispitan je odgovor biljke kukuruza u fazi klijanca (3 - 4 lista) na simulirani stres suše izazvan primenom 4 % PEG-a kao osmotikuma, praćenjem parametara rasta korena i nadzemnog dela, sadržaja prolina u korenu i listu, kao i sadržaja ukupnih proteina i aktivnosti rastvorljivih peroksidaza u korenu (slika 5, 6 i 7).



Slika 5. Kontrola (levo) i tretman (desno) - domaće populacije kukuruza



Slika 6. Kontrola (levo) i tretman (desno) - introdukovane populacije kukuruza



Slika 7. Kontrola (levo) i tretman (desno) - introdukovane inbred linije kukuruza



## 6.4.1 Prosečne vrednosti ispitivanih fizioloških i biohemijskih parametara

### 6.4.1.1 Domaće populacije kukuruza

Prosečno smanjenje dužine korena pod uticajem PEG-a je bilo 11,4% i kretalo se u intervalu od 2,8% kod genotipa K<sub>8</sub>, do 17,9% kod genotipa K<sub>3</sub> (tabela 14). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je bio neznatno izraženiji, pa je prosečno smanjenje dužine lista bilo 12,0%, krećući se u intervalu od 3,0% kod genotipa K<sub>2</sub>, do 21,8% kod genotipa K<sub>12</sub>. Prosečan odnos dužine korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (2,1), sa većim intervalom variranja kod tretmana (od 1,5% do 2,48%). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za dužinu korena, kao i za odnos dužine korena i lista (i u kontroli i u tretmanu), je bila kod genotipa K<sub>2</sub>, a za dužinu lista (i u kontroli i u tretmanu), kod genotipa K<sub>11</sub>.

Prosečno smanjenje sveže mase korena pod uticajem PEG-a je iznosilo 16% i kretalo se u intervalu od 4,2% kod genotipa K<sub>8</sub>, do 31,9% kod genotipa K<sub>12</sub> (tabela 15). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je takođe bio neznatno izraženiji, pa je prosečno smanjenje sveže mase lista bilo 17,0%, a kretalo se u intervalu od 2,2% kod genotipa K<sub>2</sub>, do 40,8% kod genotipa K<sub>12</sub>. Prosečan odnos sveže mase korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (0,6%), sa većim intervalom variranja u kontroli (0,4% do 0,8%). Kod svih genotipova je utvrđena statistički značajna razlika za svežu masu korena i lista, kao i za odnos sveže mase korena i lista (i u kontroli i u tretmanu). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za svežu masu korena i lista (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipova K<sub>2</sub> i K<sub>11</sub>, a za odnos sveže mase korena i lista, kod genotipa K<sub>9</sub>.

Prosečno smanjenje suve mase korena pod uticajem PEG-a je bilo 1,1% i kretalo se u intervalu od 6,3% smanjenja kod genotipa K<sub>8</sub>, do 7,7% povećanja kod genotipa K<sub>2</sub> (tabela 16). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je uslovio prosečno povećanje suve mase za 0,6%, sa intervalom variranja od 3,4% smanjenja kod genotipa K<sub>7</sub>, do 8,5% povećanja kod genotipa K<sub>5</sub>. Prosečan odnos suve mase korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (0,7) i sa istim intervalom variranja u obe varijante (od 0,6 do 0,8). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za suhu masu korena i odnosu suve mase korena i lista (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa K<sub>10</sub>, a za suhu masu lista (i u kontroli i u tretmanu), kod genotipa K<sub>13</sub>.

Prosečno povećanje sadržaja prolina pod uticajem PEG-a je bilo 41,3% i kretalo se u intervalu od 21,8% smanjenja kod genotipa K<sub>6</sub>, do 168,2% povećanja kod genotipa K<sub>1</sub> (tabela 17). Efekat PEG-a na sadržaj prolina u nadzemnom delu je bio znatno slabije izražen, pa je prosečno povećanje sadržaja prolina u listu bilo 12,0%, a kretalo se u intervalu od 6,4% smanjenja kod genotipa K<sub>10</sub>, do 37,6% povećanja kod genotipa K<sub>12</sub>. Prosečan odnos sadržaja prolina korena i lista je bio veći u tretmanu (1,0), i sa većim intervalom variranja (od 0,4 do 1,9). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za sadržaj prolina u korenu, kao i za odnos sadržaja prolina korena i lista (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa K<sub>9</sub>, a za sadržaj prolina u listu (i u kontroli i u tretmanu), kod genotipa K<sub>1</sub>.

Kod većine genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje sadržaja rastvorljivih proteina, koje se kretalo u intervalu od 0,66% kod genotipa K<sub>1</sub>, do 25,31% kod genotipa K<sub>12</sub> (tabela 18). Samo kod 3 genotipa (K<sub>4</sub>, K<sub>9</sub> i K<sub>10</sub>) je došlo do povećanja sadržaja proteina, krećući se u intervalu od 3,63% do 12,26%. Kod svih genotipova je utvrđena statistički značajna razlika za sadržaj ukupnih proteina u korenu. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za sadržaj ukupnih proteina u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa K<sub>12</sub>.

Kod većine genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao povećanje specifične aktivnosti rastvorljivih peroksidaza, koje se kretalo u intervalu 1,09% (genotip K<sub>10</sub>) do 61,65% (genotip K<sub>7</sub>). Samo kod tri genotipa (K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub> i K<sub>13</sub>) je došlo do smanjenja specifične POD aktivnosti u intervalu od 9,60% do 11,72%. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za specifičnu POD aktivnost u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa K<sub>2</sub>.

Pod dejstvom PEG-a, aktivnost POD na gram sveže mase se povećala kod više od polovine ispitivanih genotipova, i kretala se u intervalu od 1,28% (genotip K<sub>11</sub>) do 39,78% (genotip K<sub>7</sub>), dok se kod ostalih genotipova smanjenje POD aktivnosti na gram sveže mase kretalo u intervalu od 1,56% (genotip K<sub>5</sub>) do 13,00% (genotip K<sub>13</sub>). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za aktivnost POD na gram sveže mase u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa K<sub>2</sub>.

Tabela 14. Uticaj PEG-a na dužinu (u cm) korena i nadzemnog dela klijanaca domaćih populacija kukuruza, promena dužine tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos dužine korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST				
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
K <sub>1</sub>	20,8 ±	1,4 <sup>b</sup>	18,3 ±	1,2 <sup>bcd</sup>	-12,0	8,9 ±	0,8 <sup>cde</sup>	7,4 ±	0,5 <sup>f</sup>	-16,9	2,3 ±	0,26 <sup>a</sup>	2,5 ±	0,21 <sup>a</sup>	
K <sub>2</sub>	11,0 ±	1,5 <sup>c</sup>	9,6 ±	1,1 <sup>h</sup>	-12,7	6,6 ±	0,7 <sup>f</sup>	6,4 ±	0,6 <sup>g</sup>	-3,0	1,7 ±	0,19 <sup>e</sup>	1,5 ±	0,24 <sup>h</sup>	
K <sub>3</sub>	22,3 ±	1,3 <sup>a</sup>	18,3 ±	1,0 <sup>bc</sup>	-17,9	9,4 ±	0,6 <sup>c</sup>	8,2 ±	0,6 <sup>cd</sup>	-12,8	2,4 ±	0,20 <sup>a</sup>	2,2 ±	0,18 <sup>bcd</sup>	
K <sub>4</sub>	20,0 ±	2,9 <sup>b</sup>	16,8 ±	2,0 <sup>e</sup>	-16,0	9,2 ±	1,3 <sup>cd</sup>	7,5 ±	0,5 <sup>ef</sup>	-18,5	2,2 ±	0,50 <sup>ab</sup>	2,2 ±	0,29 <sup>bcd</sup>	
K <sub>5</sub>	23,4 ±	3,5 <sup>a</sup>	22,2 ±	2,1 <sup>a</sup>	-5,1	11,9 ±	1,8 <sup>a</sup>	10,2 ±	1,0 <sup>a</sup>	-14,3	2,0 ±	0,35 <sup>cd</sup>	2,2 ±	0,27 <sup>cde</sup>	
K <sub>6</sub>	18,0 ±	1,5 <sup>c</sup>	17,0 ±	2,6 <sup>e</sup>	-5,6	8,5 ±	0,6 <sup>de</sup>	8,1 ±	0,7 <sup>cd</sup>	-4,7	2,1 ±	0,28 <sup>bc</sup>	2,1 ±	0,39 <sup>def</sup>	
K <sub>7</sub>	20,0 ±	1,8 <sup>b</sup>	17,3 ±	1,5 <sup>cde</sup>	-13,5	8,4 ±	0,6 <sup>e</sup>	7,6 ±	0,4 <sup>ef</sup>	-9,5	2,4 ±	0,22 <sup>a</sup>	2,3 ±	0,27 <sup>abc</sup>	
K <sub>8</sub>	17,6 ±	1,3 <sup>cd</sup>	17,1 ±	1,5 <sup>de</sup>	-2,8	9,4 ±	1,0 <sup>c</sup>	8,4 ±	0,7 <sup>c</sup>	-10,6	1,9 ±	0,27 <sup>d</sup>	2,0 ±	0,21 <sup>ef</sup>	
K <sub>9</sub>	18,0 ±	1,0 <sup>c</sup>	16,5 ±	2,2 <sup>e</sup>	-8,3	8,8 ±	0,6 <sup>cde</sup>	8,1 ±	0,7 <sup>cd</sup>	-8,0	2,1 ±	0,21 <sup>bcd</sup>	2,0 ±	0,23 <sup>ef</sup>	
K <sub>10</sub>	16,4 ±	1,4 <sup>d</sup>	14,7 ±	0,6 <sup>f</sup>	-10,4	8,3 ±	1,1 <sup>e</sup>	7,5 ±	0,6 <sup>ef</sup>	-9,6	2,0 ±	0,27 <sup>cd</sup>	2,0 ±	0,16 <sup>f</sup>	
K <sub>11</sub>	16,7 ±	1,8 <sup>cd</sup>	13,8 ±	1,6 <sup>fg</sup>	-17,4	7,1 ±	0,6 <sup>f</sup>	5,8 ±	0,6 <sup>h</sup>	-18,3	2,4 ±	0,30 <sup>a</sup>	2,4 ±	0,33 <sup>ab</sup>	
K <sub>12</sub>	16,3 ±	1,5 <sup>d</sup>	13,4 ±	1,2 <sup>g</sup>	-17,8	10,1 ±	1,2 <sup>b</sup>	7,9 ±	1,1 <sup>de</sup>	-21,8	1,6 ±	0,23 <sup>e</sup>	1,7 ±	0,28 <sup>g</sup>	
K <sub>13</sub>	20,5 ±	1,5 <sup>b</sup>	18,7 ±	1,9 <sup>b</sup>	-8,5	10,2 ±	1,0 <sup>b</sup>	9,4 ±	0,6 <sup>b</sup>	-7,8	2,0 ±	0,25 <sup>cd</sup>	2,0 ±	0,29 <sup>f</sup>	
$\bar{X}$	18,5 ± 1,73		16,4 ± 1,58			-11,4	9,0 ± 0,9		7,9 ± 0,65			2,1 ± 0,27		2,1 ± 0,26	
X <sub>min</sub>	11,01		9,64			-2,8	6,59		5,75			1,61		1,50	
X <sub>max</sub>	23,41		22,16			-17,9	11,88		10,16			2,37		2,48	
CV %	9,79		10,09				10,89		8,35			13,65		12,32	
LSD <sub>0,05</sub>	1,308		1,196				0,7052		0,4744			0,2052		0,1866	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 15. Uticaj PEG-a na svežu masu (u mg) korena i nadzemnog dela klijanaca domaćih populacija kukuruza, promena sveže mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sveže mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
K <sub>1</sub>	245,7 ± 1,4 <sup>e</sup>		187,1 ± 1,7 <sup>g</sup>		-23,9	344,2 ± 1,4 <sup>h</sup>		277,8 ± 1,3 <sup>g</sup>		-19,3	0,7 ± 0,00 <sup>c</sup>		0,7 ± 0,00 <sup>c</sup>	
K <sub>2</sub>	139,0 ± 2,1 <sup>l</sup>		114,3 ± 1,6 <sup>m</sup>		-17,8	215,3 ± 1,2 <sup>m</sup>		210,5 ± 1,7 <sup>l</sup>		-2,2	0,6 ± 0,01 <sup>e</sup>		0,5 ± 0,00 <sup>i</sup>	
K <sub>3</sub>	247,8 ± 1,3 <sup>d</sup>		200,8 ± 1,5 <sup>f</sup>		-19,0	332,9 ± 1,4 <sup>i</sup>		275,8 ± 1,4 <sup>h</sup>		-17,2	0,7 ± 0,00 <sup>b</sup>		0,7 ± 0,00 <sup>b</sup>	
K <sub>4</sub>	220,3 ± 1,8 <sup>g</sup>		153,8 ± 1,4 <sup>i</sup>		-30,2	364,2 ± 1,4 <sup>g</sup>		272,4 ± 1,4 <sup>i</sup>		-25,2	0,6 ± 0,00 <sup>f</sup>		0,6 ± 0,00 <sup>h</sup>	
K <sub>5</sub>	309,1 ± 1,6 <sup>a</sup>		279,9 ± 1,9 <sup>a</sup>		-9,4	583,9 ± 0,9 <sup>a</sup>		447,2 ± 1,3 <sup>a</sup>		-23,4	0,5 ± 0,00 <sup>j</sup>		0,6 ± 0,00 <sup>e</sup>	
K <sub>6</sub>	219,0 ± 1,6 <sup>h</sup>		205,1 ± 1,7 <sup>e</sup>		-6,3	377,7 ± 1,1 <sup>e</sup>		364,0 ± 1,0 <sup>c</sup>		-3,6	0,6 ± 0,00 <sup>g</sup>		0,6 ± 0,00 <sup>h</sup>	
K <sub>7</sub>	251,9 ± 1,8 <sup>c</sup>		209,3 ± 1,6 <sup>d</sup>		-16,9	314,1 ± 0,9 <sup>j</sup>		281,2 ± 0,6 <sup>f</sup>		-10,5	0,8 ± 0,00 <sup>a</sup>		0,7 ± 0,00 <sup>a</sup>	
K <sub>8</sub>	222,6 ± 1,9 <sup>f</sup>		213,3 ± 1,7 <sup>c</sup>		-4,2	432,4 ± 1,2 <sup>d</sup>		363,4 ± 0,9 <sup>d</sup>		-16,0	0,5 ± 0,00 <sup>k</sup>		0,6 ± 0,00 <sup>g</sup>	
K <sub>9</sub>	156,3 ± 1,9 <sup>k</sup>		145,4 ± 1,8 <sup>j</sup>		-7,0	366,2 ± 1,5 <sup>f</sup>		288,0 ± 1,3 <sup>e</sup>		-21,4	0,4 ± 0,00 <sup>m</sup>		0,5 ± 0,00 <sup>k</sup>	
K <sub>10</sub>	189,4 ± 1,7 <sup>j</sup>		172,2 ± 1,0 <sup>h</sup>		-9,1	285,5 ± 1,7 <sup>k</sup>		259,2 ± 1,0 <sup>k</sup>		-9,2	0,7 ± 0,00 <sup>d</sup>		0,7 ± 0,00 <sup>d</sup>	
K <sub>11</sub>	137,5 ± 1,6 <sup>m</sup>		122,8 ± 1,5 <sup>l</sup>		-10,7	241,0 ± 1,3 <sup>l</sup>		203,5 ± 1,6 <sup>m</sup>		-15,6	0,6 ± 0,00 <sup>h</sup>		0,6 ± 0,00 <sup>f</sup>	
K <sub>12</sub>	202,9 ± 1,6 <sup>i</sup>		138,2 ± 1,6 <sup>k</sup>		-31,9	456,6 ± 1,6 <sup>c</sup>		270,4 ± 1,9 <sup>j</sup>		-40,8	0,4 ± 0,00 <sup>l</sup>		0,5 ± 0,00 <sup>j</sup>	
K <sub>13</sub>	275,1 ± 1,4 <sup>b</sup>		214,1 ± 1,1 <sup>b</sup>		-22,2	508,7 ± 1,5 <sup>b</sup>		424,7 ± 1,4 <sup>b</sup>		-16,5	0,5 ± 0,00 <sup>i</sup>		0,5 ± 0,00 <sup>k</sup>	
$\bar{X}$	216,7 ± 1,67		181,3 ± 1,53		-16,0	371,0 ± 1,32		302,9 ± 1,31		-17,0	0,6 ± 0,00		0,6 ± 0,00	
X <sub>min</sub>	137,5		114,3		-4,2	215,3		203,5		-2,2	0,4		0,5	
X <sub>max</sub>	309,1		279,9		-31,9	583,9		447,2		-40,8	0,8		0,7	
CV %	0,18		0,24			0,09		0,14			0,28		0,27	
LSD <sub>0,05</sub>	0,5498		0,6267			0,4968		0,5913			0,002		0,002	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 16. Uticaj PEG-a na suhu masu (u mg g<sup>-1</sup> sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca domaćih populacija kukuruza, promena suve mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos suve mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST				
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
K <sub>1</sub>	51,3 ±	1,9 <sup>d</sup>	51,3 ±	2,9 <sup>ef</sup>	0,0	67,8 ±	1,9 <sup>i</sup>	67,0 ±	1,6 <sup>h</sup>	-1,2	0,8 ±	0,01 <sup>c</sup>	0,8 ±	0,03 <sup>b</sup>	
K <sub>2</sub>	50,7 ±	3,9 <sup>d</sup>	54,6 ±	6,1 <sup>c</sup>	7,7	76,3 ±	2,5 <sup>d</sup>	75,7 ±	1,3 <sup>de</sup>	-0,8	0,7 ±	0,03 <sup>f</sup>	0,7 ±	0,07 <sup>d</sup>	
K <sub>3</sub>	59,4 ±	2,0 <sup>a</sup>	60,5 ±	3,5 <sup>a</sup>	1,9	81,6 ±	2,1 <sup>a</sup>	83,6 ±	1,9 <sup>a</sup>	2,5	0,7 ±	0,01 <sup>d</sup>	0,7 ±	0,03 <sup>cd</sup>	
K <sub>4</sub>	57,2 ±	2,0 <sup>b</sup>	53,8 ±	4,6 <sup>cd</sup>	-5,9	80,2 ±	1,7 <sup>b</sup>	80,1 ±	1,2 <sup>b</sup>	-0,1	0,7 ±	0,01 <sup>de</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>ef</sup>	
K <sub>5</sub>	55,8 ±	2,2 <sup>b</sup>	52,6 ±	1,7 <sup>def</sup>	-5,7	72,7 ±	0,7 <sup>f</sup>	78,9 ±	1,1 <sup>c</sup>	8,5	0,8 ±	0,02 <sup>bc</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>f</sup>	
K <sub>6</sub>	53,7 ±	2,8 <sup>c</sup>	57,2 ±	2,6 <sup>b</sup>	6,5	74,8 ±	0,6 <sup>e</sup>	76,2 ±	1,5 <sup>de</sup>	1,9	0,7 ±	0,03 <sup>d</sup>	0,7 ±	0,02 <sup>bc</sup>	
K <sub>7</sub>	50,2 ±	2,0 <sup>de</sup>	47,9 ±	3,0 <sup>h</sup>	-4,6	79,0 ±	0,8 <sup>c</sup>	76,3 ±	0,6 <sup>de</sup>	-3,4	0,6 ±	0,02 <sup>g</sup>	0,6 ±	0,03 <sup>g</sup>	
K <sub>8</sub>	56,8 ±	2,1 <sup>b</sup>	53,2 ±	3,4 <sup>cd</sup>	-6,3	78,7 ±	1,2 <sup>c</sup>	76,6 ±	1,3 <sup>d</sup>	-2,7	0,7 ±	0,02 <sup>d</sup>	0,7 ±	0,03 <sup>e</sup>	
K <sub>9</sub>	52,9 ±	3,0 <sup>c</sup>	51,2 ±	3,5 <sup>f</sup>	-3,2	76,0 ±	1,4 <sup>d</sup>	75,4 ±	1,4 <sup>e</sup>	-0,8	0,7 ±	0,03 <sup>e</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>ef</sup>	
K <sub>10</sub>	48,8 ±	3,6 <sup>e</sup>	49,1 ±	3,1 <sup>gh</sup>	0,6	81,3 ±	1,9 <sup>a</sup>	80,0 ±	1,2 <sup>b</sup>	-1,6	0,6 ±	0,03 <sup>h</sup>	0,6 ±	0,03 <sup>g</sup>	
K <sub>11</sub>	54,1 ±	3,7 <sup>c</sup>	50,9 ±	4,1 <sup>fg</sup>	-5,9	74,0 ±	0,8 <sup>e</sup>	73,4 ±	1,6 <sup>f</sup>	-0,8	0,7 ±	0,04 <sup>d</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>e</sup>	
K <sub>12</sub>	55,9 ±	4,2 <sup>b</sup>	53,7 ±	3,4 <sup>cd</sup>	-3,9	69,3 ±	1,3 <sup>h</sup>	73,3 ±	2,5 <sup>f</sup>	5,8	0,8 ±	0,05 <sup>a</sup>	0,7 ±	0,02 <sup>cd</sup>	
K <sub>13</sub>	55,8 ±	2,4 <sup>b</sup>	58,5 ±	1,9 <sup>b</sup>	4,8	71,1 ±	1,0 <sup>g</sup>	71,7 ±	0,8 <sup>g</sup>	0,8	0,8 ±	0,02 <sup>ab</sup>	0,8 ±	0,02 <sup>a</sup>	
$\bar{X}$	54,1 ± 2,7		53,4 ± 3,4			-1,1	75,6 ± 1,4		76,0 ± 1,4			0,7 ± 0,03		0,7 ± 0,03	
X <sub>min</sub>	48,8		47,9			0,0	67,8		67,0			0,6		0,6	
X <sub>max</sub>	59,4		60,5			7,7	81,6		83,6			0,8		0,8	
CV %	1,93		2,56				0,94		0,95			2,13		2,59	
LSD <sub>0,05</sub>	1,497		1,960				1,020		1,032			0,022		0,026	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 17. Uticaj PEG-a na sadržaj prolina (u  $\mu\text{g g}^{-1}$  sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca domaćih populacija kukuruza, promena sadržaja prolina tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sadržaja prolina korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
K <sub>1</sub>	27,7 ±	2,1 <sup>efg</sup>	74,3 ±	4,3 <sup>ab</sup>	168,2	33,5 ±	0,6 <sup>h</sup>	38,7 ±	0,1 <sup>g</sup>	15,5	0,8 ±	0,06 <sup>cd</sup>	1,9 ±	0,12 <sup>a</sup>
K <sub>2</sub>	35,6 ±	0,7 <sup>bcd</sup>	36,6 ±	0,3 <sup>fg</sup>	2,8	42,9 ±	0,5 <sup>ef</sup>	44,3 ±	2,1 <sup>de</sup>	3,3	0,8 ±	0,02 <sup>cd</sup>	0,8 ±	0,04 <sup>f</sup>
K <sub>3</sub>	26,6 ±	0,6 <sup>fg</sup>	62,4 ±	2,8 <sup>c</sup>	134,6	49,7 ±	1,1 <sup>bc</sup>	57,7 ±	1,6 <sup>a</sup>	16,1	0,5 ±	0,02 <sup>e</sup>	1,1 ±	0,06 <sup>d</sup>
K <sub>4</sub>	33,6 ±	2,9 <sup>cde</sup>	45,2 ±	1,1 <sup>d</sup>	34,5	36,6 ±	0,5 <sup>g</sup>	40,5 ±	1,5 <sup>fg</sup>	10,7	0,9 ±	0,08 <sup>bc</sup>	1,1 ±	0,04 <sup>d</sup>
K <sub>5</sub>	31,2 ±	1,7 <sup>def</sup>	36,4 ±	5,7 <sup>fg</sup>	16,7	41,9 ±	4,9 <sup>f</sup>	53,7 ±	1,7 <sup>b</sup>	28,2	0,7 ±	0,05 <sup>d</sup>	0,7 ±	0,13 <sup>g</sup>
K <sub>6</sub>	40,4 ±	8,1 <sup>b</sup>	31,6 ±	7,1 <sup>g</sup>	-21,8	45,3 ±	2,4 <sup>de</sup>	45,7 ±	2,3 <sup>d</sup>	0,9	0,9 ±	0,13 <sup>bcd</sup>	0,7 ±	0,12 <sup>g</sup>
K <sub>7</sub>	37,4 ±	0,3 <sup>bcd</sup>	39,4 ±	2,2 <sup>ef</sup>	5,3	40,8 ±	1,5 <sup>f</sup>	42,4 ±	1,6 <sup>ef</sup>	3,9	0,9 ±	0,03 <sup>bc</sup>	0,9 ±	0,03 <sup>e</sup>
K <sub>8</sub>	39,0 ±	7,5 <sup>bc</sup>	44,0 ±	5,1 <sup>de</sup>	12,8	50,5 ±	1,4 <sup>b</sup>	53,5 ±	1,1 <sup>b</sup>	5,9	0,8 ±	0,17 <sup>d</sup>	0,8 ±	0,08 <sup>f</sup>
K <sub>9</sub>	18,8 ±	0,7 <sup>h</sup>	18,9 ±	1,2 <sup>i</sup>	0,5	36,8 ±	1,5 <sup>g</sup>	46,3 ±	1,5 <sup>d</sup>	25,8	0,5 ±	0,03 <sup>e</sup>	0,4 ±	0,04 <sup>h</sup>
K <sub>10</sub>	23,1 ±	6,0 <sup>gh</sup>	25,4 ±	3,5 <sup>h</sup>	10,0	58,2 ±	1,3 <sup>a</sup>	54,5 ±	1,8 <sup>b</sup>	-6,4	0,4 ±	0,11 <sup>e</sup>	0,5 ±	0,05 <sup>h</sup>
K <sub>11</sub>	51,8 ±	7,4 <sup>a</sup>	69,8 ±	1,2 <sup>b</sup>	34,7	42,7 ±	0,6 <sup>f</sup>	46,2 ±	0,8 <sup>d</sup>	8,2	1,2 ±	0,18 <sup>a</sup>	1,5 ±	0,04 <sup>b</sup>
K <sub>12</sub>	25,3 ±	0,6 <sup>fgh</sup>	43,7 ±	0,6 <sup>de</sup>	72,7	25,8 ±	1,0 <sup>i</sup>	35,5 ±	1,3 <sup>h</sup>	37,6	1,0 ±	0,03 <sup>b</sup>	1,2 ±	0,05 <sup>c</sup>
K <sub>13</sub>	47,1 ±	4,5 <sup>a</sup>	78,3 ±	0,6 <sup>a</sup>	66,2	47,2 ±	0,6 <sup>cd</sup>	50,4 ±	0,9 <sup>c</sup>	6,8	1,0 ±	0,11 <sup>b</sup>	1,6 ±	0,03 <sup>b</sup>
$\bar{X}$	33,7 ± 3,3		46,6 ± 2,8		41,3	42,5 ± 1,4		46,9 ± 1,4		12,0	0,8 ± 0,08		1,0 ± 0,06	
X <sub>min</sub>	18,8		18,9		0,5	25,8		35,5		0,9	0,4		0,4	
X <sub>max</sub>	51,8		78,3		168,2	58,2		57,7		37,6	1,2		1,9	
CV %	13,49		7,51			4,31		3,26			12,15		7,00	
LSD <sub>0,05</sub>	6,521		5,018			2,625		2,323			0,1434		0,1014	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

Tabela 18. Uticaj PEG-a na sadržaj ukupnih proteina i POD aktivnosti u korenu klijanaca domaćih populacija kukuruza, promena sadržaja ukupnih proteina i POD aktivnosti tretmana u odnosu na kontrolu (%)

Genotip	PROTEINI ( $\text{mg}_{\text{prot}} \text{g}^{-1}$ sveže mase)					POD ( $\mu\text{mol}_{\text{ferulinske kiseline}} \text{mg}^{-1} \text{prot} \text{min}^{-1}$ )					POD ( $\mu\text{mol}_{\text{ferulinske kiseline}} \text{g}^{-1}$ sveže mase $\text{min}^{-1}$ )					
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman			
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	
K <sub>1</sub>	3,02 ±	0,00 <sup>c</sup>	3,00 ±	0,08 <sup>bc</sup>	-0,66	5,36 ±	0,05 <sup>ef</sup>	5,91 ±	0,17 <sup>fgh</sup>	10,26	16,21 ±	0,15 <sup>h</sup>	17,73 ±	0,08 <sup>f</sup>	9,38	
K <sub>2</sub>	3,81 ±	0,00 <sup>a</sup>	2,99 ±	0,08 <sup>c</sup>	-21,52	3,61 ±	0,15 <sup>h</sup>	4,74 ±	0,08 <sup>h</sup>	31,30	13,76 ±	0,59 <sup>k</sup>	14,17 ±	0,17 <sup>i</sup>	2,98	
K <sub>3</sub>	2,71 ±	0,09 <sup>ef</sup>	2,69 ±	0,00 <sup>d</sup>	-0,74	7,45 ±	0,29 <sup>d</sup>	6,68 ±	0,15 <sup>ef</sup>	-10,34	20,21 ±	0,20 <sup>d</sup>	17,97 ±	0,40 <sup>f</sup>	-11,08	
K <sub>4</sub>	3,03 ±	0,09 <sup>c</sup>	3,14 ±	0,18 <sup>ab</sup>	3,63	5,63 ±	0,18 <sup>ef</sup>	4,97 ±	0,32 <sup>gh</sup>	-11,72	17,06 ±	0,37 <sup>g</sup>	15,56 ±	0,29 <sup>g</sup>	-8,79	
K <sub>5</sub>	2,46 ±	0,12 <sup>g</sup>	2,23 ±	0,08 <sup>g</sup>	-9,35	6,02 ±	0,29 <sup>e</sup>	6,52 ±	0,13 <sup>ef</sup>	8,31	14,78 ±	0,13 <sup>j</sup>	14,55 ±	0,27 <sup>hi</sup>	-1,56	
K <sub>6</sub>	2,88 ±	0,00 <sup>d</sup>	2,40 ±	0,00 <sup>ef</sup>	-16,67	5,29 ±	0,04 <sup>f</sup>	6,15 ±	0,10 <sup>efg</sup>	16,26	15,21 ±	0,11 <sup>ij</sup>	14,76 ±	0,24 <sup>h</sup>	-2,96	
K <sub>7</sub>	2,75 ±	0,13 <sup>e</sup>	2,38 ±	0,20 <sup>f</sup>	-13,45	5,58 ±	0,20 <sup>ef</sup>	9,02 ±	0,68 <sup>c</sup>	61,65	15,31 ±	0,26 <sup>i</sup>	21,40 ±	0,23 <sup>d</sup>	39,78	
K <sub>8</sub>	3,93 ±	0,12 <sup>a</sup>	3,22 ±	0,00 <sup>a</sup>	-18,07	4,48 ±	0,18 <sup>g</sup>	6,00 ±	0,04 <sup>efgh</sup>	33,93	17,59 ±	0,24 <sup>f</sup>	19,33 ±	0,14 <sup>e</sup>	9,89	
K <sub>9</sub>	2,61 ±	0,00 <sup>f</sup>	2,93 ±	0,08 <sup>c</sup>	12,26	6,88 ±	0,07 <sup>d</sup>	7,33 ±	0,18 <sup>de</sup>	6,54	17,94 ±	0,18 <sup>f</sup>	21,49 ±	0,37 <sup>d</sup>	19,79	
K <sub>10</sub>	2,34 ±	0,08 <sup>g</sup>	2,54 ±	0,04 <sup>e</sup>	8,55	8,22 ±	0,33 <sup>c</sup>	8,31 ±	0,15 <sup>cd</sup>	1,09	19,22 ±	0,21 <sup>e</sup>	21,07 ±	0,08 <sup>d</sup>	9,63	
K <sub>11</sub>	3,67 ±	0,06 <sup>b</sup>	3,16 ±	0,00 <sup>a</sup>	-13,90	5,94 ±	0,13 <sup>ef</sup>	6,99 ±	0,11 <sup>def</sup>	17,67	21,80 ±	0,44 <sup>c</sup>	22,08 ±	0,35 <sup>c</sup>	1,28	
K <sub>12</sub>	1,62 ±	0,12 <sup>h</sup>	1,21 ±	0,14 <sup>h</sup>	-25,31	16,46 ±	1,50 <sup>b</sup>	24,87 ±	2,85 <sup>a</sup>	51,09	26,60 ±	0,55 <sup>b</sup>	29,93 ±	0,11 <sup>a</sup>	12,52	
K <sub>13</sub>	1,37 ±	0,05 <sup>i</sup>	1,33 ±	0,09 <sup>h</sup>	-2,92	21,88 ±	0,75 <sup>a</sup>	19,78 ±	1,92 <sup>b</sup>	-9,60	30,01 ±	0,90 <sup>a</sup>	26,11 ±	0,89 <sup>b</sup>	-13,00	
$\bar{X}$	2,79 ± 0,07		2,56 ± 0,07			-7,55	7,91 ± 0,32		9,02 ± 0,53			18,90 ± 0,33		19,70 ± 0,28		5,22
X <sub>mun</sub>	1,37		1,21			-0,66	3,61		4,74			13,76		14,17		1,28
X <sub>max</sub>	3,93		3,22			-25,31	21,88		2487			30,01		29,93		39,78
CV %	3,03		3,74				6,21		10,85			1,79		1,57		
LSD <sub>0.05</sub>	0,1200		0,1360				0,7040		1,404			0,4842		0,4420		

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

#### 6.4.1.2 Introdokovane populacije kukuruza

Prosečno smanjenje dužine korena pod uticajem PEG-a je bilo 28,2%, i kretalo se u intervalu od 8,5% kod genotipa P<sub>11</sub>, do 58,7% kod genotipa P<sub>2</sub> (tabela 19). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je bio slabije izražen, sa prosečnim smanjenjem dužine lista od 17,3%, krećući se u intervalu od 10,0% kod genotipa P<sub>9</sub>, do 26,4% kod genotipa P<sub>1</sub>. Prosečan odnos dužine korena i lista je bio veći u kontroli (2,1), sa manjim intervalom variranja (od 1,6 do 2,5). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za dužinu korena i lista, kao i za odnos dužine korena i lista (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa P<sub>12</sub>.

Prosečno smanjenje sveže mase korena pod uticajem PEG-a je bilo 28,1%, i kretalo se u intervalu od 11,6% kod genotipa P<sub>3</sub>, do 43,3% kod genotipa P<sub>1</sub> (tabela 20). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je bio neznatno slabiji, sa prosečnim smanjenjem sveže mase lista od 24,4%, krećući se u intervalu od 6,6% kod genotipa P<sub>8</sub>, do 37,8% kod genotipa P<sub>13</sub>. Prosečan odnos sveže mase korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (0,6) i sa istim intervalom variranja (od 0,5 do 0,8). Kod svih genotipova je utvrđena statistički značajna razlika za svežu masu korena i lista, kao i za odnos sveže mase korena i lista (i u kontroli i u tretmanu). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za svežu masu korena i za odnos sveže mase korena i lista je bila kod genotipa P<sub>7</sub>, dok je za list bila kod genotipa P<sub>12</sub>.

Prosečno povećanje suve mase korena pod uticajem PEG-a je bilo 0,5%, i kretalo se u intervalu od 0,6% smanjenja kod genotipa P<sub>10</sub>, do 17,6% povećanja kod genotipa P<sub>8</sub> (tabela 21). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je uslovio prosečno povećanje suve mase za 0,8%, pri intervalu variranja od 0,3% smanjenja kod genotipa P<sub>1</sub>, do 6,9% povećanja kod genotipova P<sub>8</sub> i P<sub>9</sub>. Prosečan odnos suve mase korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (0,7), uz isti interval variranja u obe varijante (od 0,6 do 0,8). I u kontroli i u tretmanu, najveća statistički značajna razlika za suhu masu korena je bila kod genotipa P<sub>10</sub>, za suhu masu lista kod genotipa P<sub>7</sub>, dok je za odnos suve mase korena i lista najveća statistički značajna razlika bila kod genotipa P<sub>12</sub>.

Prosečno povećanje sadržaja prolina pod uticajem PEG-a je bilo 35,5% i kretalo se u intervalu od 6,7% kod genotipa P<sub>5</sub>, do 105,0% kod genotipa P<sub>13</sub> (tabela 22). Efekat PEG-a na sadržaj prolina u nadzemnom delu je bio znatno slabije izražen, sa prosečnim povećanjem sadržaja prolina u listu od 11,4%, a kretalo se u intervalu od 1,5% kod



genotipa P<sub>10</sub>, do 17,8% kod genotipa P<sub>13</sub>. Prosečan odnos sadržaja prolina korena i lista je bio veći u tretmanu (1,1) i sa većim intervalom variranja (od 0,6 do 2,1). I u kontroli i u tretmanu, najveća statistički značajna razlika za sadržaj prolina u korenu je bila kod genotipa P<sub>6</sub>, za sadržaj prolina u listu kod genotipa P<sub>1</sub>, dok je za odnos sadržaja prolina korena i lista, najveća statistički značajna razlika bila kod genotipa P<sub>5</sub>.

Kod polovine ispitivanih genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina, koje se kretalo u intervalu od 6,2% kod genotipa P<sub>13</sub>, do 23,3% kod genotipa P<sub>9</sub> (tabela 23), dok je kod druge polovine ispitivanih genotipa došlo do povećanja sadržaja proteina u intervalu od 1,0% kod genotipa P<sub>5</sub>, do 15,6% kod genotipa P<sub>4</sub>. Kod svih genotipova je utvrđena značajna razlika za sadržaj ukupnih proteina u korenu. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za sadržaj ukupnih proteina u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa P<sub>13</sub>.

Kod polovine ispitivanih genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje specifične aktivnosti rastvorljivih peroksidaza, koje se kretalo u intervalu od 4,6% kod genotipa P<sub>1</sub>, do 19,5% kod genotipa P<sub>4</sub>, dok je kod druge polovine ispitivanih genotipa došlo do povećanja specifične POD aktivnosti u intervalu od 7,9% kod genotipa P<sub>6</sub>, do 38,2% kod genotipa P<sub>12</sub>. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za specifičnu aktivnost peroksidaza u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa P<sub>3</sub>.

Pod dejstvom osmotikuma, aktivnost POD na gram sveže mase se smanjila kod većine ispitivanih genotipova i kretala se u intervalu od 0,1% kod genotipa P<sub>7</sub>, do 16,0% kod genotipa P<sub>3</sub>, dok je kod 4 genotipa aktivnost POD na gram sveže mase bila povećana i kretala se u intervalu od 4,0% kod genotipa P<sub>11</sub>, do 12,7% kod genotipa P<sub>12</sub>. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za aktivnost POD na gram sveže mase u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa P<sub>3</sub>.

Tabela 19. Uticaj PEG-a na dužinu (cm) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih populacija kukuruza, promena dužine tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos dužine korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
P <sub>1</sub>	20,7 ±	1,3 <sup>d</sup>	15,8 ±	1,0 <sup>d</sup>	-23,7	11,0 ±	0,8 <sup>a</sup>	8,1 ±	0,8 <sup>e</sup>	-26,4	1,9 ±	0,13 <sup>g</sup>	2,0 ±	0,23 <sup>de</sup>
P <sub>2</sub>	19,6 ±	1,1 <sup>e</sup>	8,1 ±	0,6 <sup>i</sup>	-58,7	9,6 ±	0,7 <sup>d</sup>	8,2 ±	0,7 <sup>de</sup>	-14,6	2,1 ±	0,14 <sup>f</sup>	1,0 ±	0,10 <sup>k</sup>
P <sub>3</sub>	18,7 ±	0,8 <sup>f</sup>	16,5 ±	0,7 <sup>c</sup>	-11,8	10,2 ±	0,7 <sup>bc</sup>	8,1 ±	0,8 <sup>e</sup>	-20,6	1,8 ±	0,13 <sup>gh</sup>	2,0 ±	0,19 <sup>cd</sup>
P <sub>4</sub>	23,2 ±	0,9 <sup>b</sup>	13,9 ±	0,4 <sup>f</sup>	-40,1	10,6 ±	0,6 <sup>ab</sup>	8,9 ±	0,5 <sup>abc</sup>	-16,0	2,2 ±	0,14 <sup>de</sup>	1,6 ±	0,11 <sup>h</sup>
P <sub>5</sub>	17,7 ±	0,8 <sup>g</sup>	12,4 ±	0,9 <sup>g</sup>	-29,9	8,5 ±	0,7 <sup>ef</sup>	6,8 ±	0,7 <sup>f</sup>	-20,0	2,1 ±	0,22 <sup>ef</sup>	1,9 ±	0,27 <sup>ef</sup>
P <sub>6</sub>	23,0 ±	0,7 <sup>bc</sup>	18,8 ±	1,0 <sup>b</sup>	-18,3	9,9 ±	0,8 <sup>cd</sup>	8,0 ±	0,7 <sup>e</sup>	-19,2	2,3 ±	0,19 <sup>bc</sup>	2,4 ±	0,23 <sup>b</sup>
P <sub>7</sub>	13,2 ±	0,7 <sup>i</sup>	8,2 ±	0,7 <sup>i</sup>	-37,9	8,1 ±	0,7 <sup>f</sup>	6,7 ±	0,5 <sup>f</sup>	-17,3	1,6 ±	0,14 <sup>i</sup>	1,2 ±	0,15 <sup>j</sup>
P <sub>8</sub>	25,3 ±	1,0 <sup>a</sup>	18,4 ±	0,7 <sup>b</sup>	-27,3	10,3 ±	0,9 <sup>bc</sup>	9,1 ±	0,8 <sup>a</sup>	-11,7	2,5 ±	0,24 <sup>a</sup>	2,0 ±	0,18 <sup>d</sup>
P <sub>9</sub>	22,3 ±	1,1 <sup>c</sup>	15,6 ±	0,9 <sup>de</sup>	-30,0	10,0 ±	0,7 <sup>cd</sup>	9,0 ±	0,7 <sup>ab</sup>	-10,0	2,2 ±	0,25 <sup>cd</sup>	1,8 ±	0,16 <sup>fg</sup>
P <sub>10</sub>	23,6 ±	1,0 <sup>b</sup>	18,6 ±	1,0 <sup>b</sup>	-21,2	9,8 ±	0,8 <sup>cd</sup>	8,6 ±	0,6 <sup>bcd</sup>	-12,2	2,4 ±	0,26 <sup>ab</sup>	2,2 ±	0,21 <sup>c</sup>
P <sub>11</sub>	23,4 ±	0,8 <sup>b</sup>	21,4 ±	1,1 <sup>a</sup>	-8,5	10,1 ±	0,8 <sup>bcd</sup>	8,4 ±	0,6 <sup>cde</sup>	-16,8	2,3 ±	0,20 <sup>bcd</sup>	2,6 ±	0,24 <sup>a</sup>
P <sub>12</sub>	15,1 ±	0,9 <sup>h</sup>	9,5 ±	0,8 <sup>h</sup>	-37,1	8,7 ±	0,6 <sup>e</sup>	6,8 ±	0,3 <sup>f</sup>	-21,8	1,7 ±	0,16 <sup>hi</sup>	1,4 ±	0,13 <sup>i</sup>
P <sub>13</sub>	19,3 ±	1,2 <sup>ef</sup>	15,1 ±	1,0 <sup>e</sup>	-21,8	11,1 ±	0,9 <sup>a</sup>	9,0 ±	0,6 <sup>ab</sup>	-18,9	1,8 ±	0,17 <sup>hi</sup>	1,7 ±	0,15 <sup>gh</sup>
$\bar{X}$	20,4 ± 0,9		14,8 ± 0,8		-28,2	9,8 ± 0,7		8,1 ± 0,6		-17,3	2,1 ± 0,18		1,8 ± 0,18	
X <sub>min</sub>	13,2		8,1		-8,5	8,1		6,7		-10,0	1,6		1,0	
X <sub>max</sub>	25,3		21,4		-58,7	11,1		9,1		-26,4	2,5		2,5	
CV %	4,62		5,73			7,49		8,01			8,88		10,36	
LSD <sub>0.05</sub>	0,6793		0,6113			0,5307		0,4705			0,1329		0,1349	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 20. Uticaj PEG-a na svežu masu (mg) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih populacija kukuruza, promena sveže mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sveže mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
P <sub>1</sub>	332,2 ±	1,4 <sup>a</sup>	188,4 ±	1,6 <sup>h</sup>	-43,3	511,9 ±	1,6 <sup>a</sup>	332,3 ±	1,0 <sup>e</sup>	-35,1	0,6 ±	0,00 <sup>g</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>j</sup>
P <sub>2</sub>	244,6 ±	1,5 <sup>i</sup>	153,5 ±	1,5 <sup>k</sup>	-37,2	342,5 ±	1,4 <sup>l</sup>	263,8 ±	1,5 <sup>k</sup>	-23,0	0,7 ±	0,01 <sup>d</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>i</sup>
P <sub>3</sub>	212,4 ±	1,5 <sup>k</sup>	187,8 ±	1,3 <sup>h</sup>	-11,6	409,8 ±	1,8 <sup>h</sup>	276,9 ±	1,8 <sup>j</sup>	-32,4	0,5 ±	0,01 <sup>l</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>b</sup>
P <sub>4</sub>	299,5 ±	1,7 <sup>d</sup>	196,3 ±	1,5 <sup>e</sup>	-34,5	423,7 ±	1,9 <sup>e</sup>	330,4 ±	1,7 <sup>f</sup>	-22,0	0,7 ±	0,01 <sup>e</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>h</sup>
P <sub>5</sub>	256,9 ±	1,6 <sup>h</sup>	167,1 ±	1,3 <sup>i</sup>	-35,0	337,6 ±	1,7 <sup>m</sup>	250,2 ±	1,6 <sup>l</sup>	-25,9	0,8 ±	0,01 <sup>b</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>c</sup>
P <sub>6</sub>	265,4 ±	1,8 <sup>g</sup>	205,0 ±	1,2 <sup>d</sup>	-22,8	417,1 ±	1,8 <sup>f</sup>	321,8 ±	1,6 <sup>g</sup>	-22,8	0,6 ±	0,01 <sup>h</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>f</sup>
P <sub>7</sub>	180,6 ±	1,7 <sup>l</sup>	132,6 ±	1,5 <sup>l</sup>	-26,6	381,0 ±	2,3 <sup>i</sup>	291,6 ±	1,8 <sup>i</sup>	-23,5	0,5 ±	0,01 <sup>m</sup>	0,5 ±	0,01 <sup>l</sup>
P <sub>8</sub>	291,1 ±	2,1 <sup>e</sup>	216,9 ±	1,6 <sup>c</sup>	-25,5	375,3 ±	1,6 <sup>j</sup>	350,5 ±	2,3 <sup>c</sup>	-6,6	0,8 ±	0,01 <sup>a</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>g</sup>
P <sub>9</sub>	273,1 ±	1,5 <sup>f</sup>	195,0 ±	2,3 <sup>f</sup>	-28,6	494,4 ±	1,9 <sup>b</sup>	404,1 ±	1,3 <sup>a</sup>	-18,3	0,6 ±	0,01 <sup>j</sup>	0,5 ±	0,01 <sup>k</sup>
P <sub>10</sub>	308,3 ±	1,9 <sup>c</sup>	234,2 ±	1,4 <sup>b</sup>	-24,0	412,1 ±	1,6 <sup>g</sup>	362,0 ±	1,2 <sup>b</sup>	-12,2	0,7 ±	0,01 <sup>c</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>e</sup>
P <sub>11</sub>	318,1 ±	2,2 <sup>b</sup>	240,4 ±	1,4 <sup>a</sup>	-24,4	465,5 ±	1,6 <sup>d</sup>	339,5 ±	1,5 <sup>d</sup>	-27,1	0,7 ±	0,01 <sup>f</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>a</sup>
P <sub>12</sub>	221,9 ±	1,5 <sup>j</sup>	162,4 ±	2,1 <sup>j</sup>	-26,8	357,8 ±	2,0 <sup>k</sup>	246,5 ±	1,7 <sup>m</sup>	-31,1	0,6 ±	0,01 <sup>i</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>d</sup>
P <sub>13</sub>	257,0 ±	2,3 <sup>h</sup>	192,7 ±	2,3 <sup>g</sup>	-25,0	487,4 ±	1,6 <sup>c</sup>	303,4 ±	1,5 <sup>h</sup>	-37,8	0,5 ±	0,01 <sup>k</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>f</sup>
$\bar{X}$	266,2 ± 1,7		190,2 ± 1,6		-28,1	416,6 ± 1,8		313,3 ± 1,6		-24,4	0,6 ± 0,01		0,6 ± 0,01	
X <sub>min</sub>	180,6		132,6		-11,6	337,6		246,5		-6,6	0,5		0,5	
X <sub>max</sub>	332,2		240,4		-43,3	511,9		404,1		-37,8	0,8		0,7	
CV %	0,14		0,23			0,13		0,17			0,25		0,37	
LSD <sub>0.05</sub>	0,5190		0,6168			0,7749		0,7615			0,002		0,003	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 21. Uticaj PEG-a na suhu masu ( $\text{mg g}^{-1}$  sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih populacija kukuruza, promena suve mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos suve mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST				
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
P <sub>1</sub>	52,9 ±	2,3 <sup>e</sup>	56,1 ±	4,3 <sup>b</sup>	6,0	76,4 ±	1,6 <sup>cd</sup>	76,2 ±	2,8 <sup>cde</sup>	-0,3	0,7 ±	0,04 <sup>fgh</sup>	0,7 ±	0,08 <sup>bc</sup>	
P <sub>2</sub>	58,9 ±	3,0 <sup>b</sup>	61,7 ±	3,6 <sup>a</sup>	4,8	78,5 ±	1,6 <sup>a</sup>	77,9 ±	3,3 <sup>b</sup>	-0,8	0,7 ±	0,05 <sup>cd</sup>	0,8 ±	0,08 <sup>a</sup>	
P <sub>3</sub>	63,9 ±	2,2 <sup>a</sup>	53,9 ±	2,9 <sup>cdef</sup>	-15,6	79,9 ±	1,5 <sup>b</sup>	80,5 ±	2,7 <sup>a</sup>	0,8	0,8 ±	0,04 <sup>a</sup>	0,7 ±	0,06 <sup>fg</sup>	
P <sub>4</sub>	53,6 ±	1,6 <sup>de</sup>	53,0 ±	3,2 <sup>efg</sup>	-1,1	78,0 ±	0,6 <sup>ab</sup>	75,0 ±	2,8 <sup>fg</sup>	-3,8	0,7 ±	0,02 <sup>h</sup>	0,7 ±	0,07 <sup>de</sup>	
P <sub>5</sub>	56,7 ±	2,5 <sup>c</sup>	55,9 ±	3,4 <sup>b</sup>	-1,4	77,0 ±	2,4 <sup>bc</sup>	74,9 ±	2,8 <sup>fg</sup>	-2,7	0,7 ±	0,05 <sup>de</sup>	0,7 ±	0,07 <sup>b</sup>	
P <sub>6</sub>	52,8 ±	2,0 <sup>ef</sup>	53,3 ±	2,2 <sup>defg</sup>	0,9	74,7 ±	1,9 <sup>e</sup>	75,1 ±	2,5 <sup>ef</sup>	0,5	0,7 ±	0,04 <sup>f</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>d</sup>	
P <sub>7</sub>	58,4 ±	2,0 <sup>b</sup>	55,0 ±	3,5 <sup>bc</sup>	-5,8	74,8 ±	2,3 <sup>e</sup>	73,9 ±	2,9 <sup>g</sup>	-1,2	0,8 ±	0,05 <sup>b</sup>	0,7 ±	0,08 <sup>b</sup>	
P <sub>8</sub>	46,1 ±	1,6 <sup>h</sup>	54,2 ±	2,9 <sup>cde</sup>	17,6	72,4 ±	2,8 <sup>f</sup>	77,4 ±	2,3 <sup>bc</sup>	6,9	0,6 ±	0,00 <sup>i</sup>	0,7 ±	0,06 <sup>de</sup>	
P <sub>9</sub>	52,0 ±	1,7 <sup>f</sup>	54,4 ±	2,0 <sup>cd</sup>	4,6	71,2 ±	1,9 <sup>f</sup>	76,1 ±	1,6 <sup>def</sup>	6,9	0,7 ±	0,00 <sup>e</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>cd</sup>	
P <sub>10</sub>	53,0 ±	2,3 <sup>e</sup>	52,7 ±	2,0 <sup>fg</sup>	-0,6	75,3 ±	2,1 <sup>de</sup>	77,3 ±	2,6 <sup>bcd</sup>	2,7	0,7 ±	0,00 <sup>fg</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>efg</sup>	
P <sub>11</sub>	50,8 ±	1,7 <sup>g</sup>	53,7 ±	2,1 <sup>def</sup>	5,7	78,3 ±	2,2 <sup>b</sup>	77,1 ±	3,0 <sup>bcd</sup>	-1,5	0,6 ±	0,04 <sup>i</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>de</sup>	
P <sub>12</sub>	54,0 ±	1,9 <sup>d</sup>	51,2 ±	2,8 <sup>h</sup>	-5,2	78,2 ±	0,7 <sup>b</sup>	76,9 ±	2,3 <sup>bcd</sup>	-1,7	0,7 ±	0,03 <sup>gh</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>g</sup>	
P <sub>13</sub>	54,1 ±	1,8 <sup>d</sup>	52,1 ±	2,4 <sup>gh</sup>	-3,7	71,3 ±	1,9 <sup>f</sup>	75,1 ±	1,1 <sup>efg</sup>	5,3	0,8 ±	0,05 <sup>g</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>def</sup>	
$\bar{X}$	54,4 ± 2,1		54,4 ± 2,9			0,5	75,6 ± 1,8		76,4 ± 2,5		0,8	0,7 ± 0,03		0,7 ± 0,06	
X <sub>min</sub>	46,1		51,2			-0,6	71,2		73,9		-0,3	0,6		0,7	
X <sub>max</sub>	63,9		61,7			17,6	79,9		80,5		6,9	0,8		0,8	
CV %	1,16		1,75				1,05		1,09			1,56		2,46	
LSD <sub>0,05</sub>	0,907		1,369				1,469		1,190			0,016		0,025	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

Tabela 22. Uticaj PEG-a na sadržaj prolina ( $\mu\text{g g}^{-1}$  sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih populacija kukuruza, promena sadržaja prolina tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sadržaja prolina korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST				
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman		
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	
P <sub>1</sub>	45,3 ±	1,1 <sup>c</sup>	50,2 ±	0,8 <sup>efg</sup>	10,8	39,5 ±	0,3 <sup>e</sup>	44,8 ±	4,1 <sup>h</sup>	13,4	1,1 ±	0,03 <sup>b</sup>	1,1 ±	0,12 <sup>bc</sup>	
P <sub>2</sub>	39,5 ±	1,4 <sup>de</sup>	45,9 ±	0,9 <sup>gh</sup>	16,2	46,4 ±	0,8 <sup>cd</sup>	51,3 ±	1,0 <sup>ef</sup>	10,6	0,9 ±	0,04 <sup>d</sup>	0,9 ±	0,03 <sup>d</sup>	
P <sub>3</sub>	52,2 ±	1,6 <sup>b</sup>	57,5 ±	1,6 <sup>d</sup>	10,2	62,4 ±	6,1 <sup>ab</sup>	70,4 ±	4,9 <sup>b</sup>	12,8	0,8 ±	0,10 <sup>de</sup>	0,8 ±	0,08 <sup>de</sup>	
P <sub>4</sub>	36,7 ±	1,3 <sup>ef</sup>	43,2 ±	2,5 <sup>hi</sup>	17,7	51,6 ±	3,1 <sup>c</sup>	56,9 ±	1,7 <sup>de</sup>	10,3	0,7 ±	0,02 <sup>ef</sup>	0,8 ±	0,02 <sup>c</sup>	
P <sub>5</sub>	42,0 ±	0,6 <sup>cd</sup>	44,8 ±	1,5 <sup>hi</sup>	6,7	68,5 ±	6,5 <sup>a</sup>	76,6 ±	2,1 <sup>a</sup>	11,8	0,6 ±	0,06 <sup>fg</sup>	0,6 ±	0,03 <sup>f</sup>	
P <sub>6</sub>	22,0 ±	1,8 <sup>g</sup>	40,1 ±	1,2 <sup>i</sup>	82,3	39,0 ±	2,1 <sup>e</sup>	45,3 ±	6,2 <sup>gh</sup>	16,2	0,6 ±	0,02 <sup>g</sup>	0,9 ±	0,15 <sup>d</sup>	
P <sub>7</sub>	83,7 ±	3,1 <sup>a</sup>	103,6 ±	1,5 <sup>a</sup>	23,8	47,1 ±	1,2 <sup>cd</sup>	50,7 ±	2,0 <sup>fg</sup>	7,6	1,8 ±	0,03 <sup>a</sup>	2,0 ±	0,06 <sup>a</sup>	
P <sub>8</sub>	34,4 ±	2,0 <sup>f</sup>	47,8 ±	2,5 <sup>fgh</sup>	39,0	41,9 ±	5,8 <sup>de</sup>	46,3 ±	7,9 <sup>fgh</sup>	10,5	0,8 ±	0,07 <sup>de</sup>	1,0 ±	0,13 <sup>c</sup>	
P <sub>9</sub>	51,9 ±	4,2 <sup>b</sup>	72,6 ±	6,6 <sup>c</sup>	39,9	58,7 ±	6,1 <sup>b</sup>	63,5 ±	3,1 <sup>c</sup>	8,2	0,9 ±	0,16 <sup>cd</sup>	1,1 ±	0,06 <sup>bc</sup>	
P <sub>10</sub>	45,3 ±	1,5 <sup>c</sup>	51,4 ±	1,9 <sup>ef</sup>	13,5	45,8 ±	4,4 <sup>cd</sup>	46,5 ±	3,7 <sup>fgh</sup>	1,5	1,0 ±	0,12 <sup>c</sup>	1,1 ±	0,06 <sup>bc</sup>	
P <sub>11</sub>	51,9 ±	1,3 <sup>b</sup>	83,9 ±	2,3 <sup>b</sup>	61,6	62,1 ±	7,7 <sup>b</sup>	69,8 ±	1,9 <sup>b</sup>	12,4	0,8 ±	0,12 <sup>de</sup>	1,2 ±	0,02 <sup>b</sup>	
P <sub>12</sub>	39,9 ±	0,7 <sup>de</sup>	54,0 ±	0,9 <sup>de</sup>	35,3	50,3 ±	1,2 <sup>c</sup>	58,2 ±	2,0 <sup>cd</sup>	15,7	0,8 ±	0,03 <sup>de</sup>	0,9 ±	0,05 <sup>d</sup>	
P <sub>13</sub>	50,5 ±	4,7 <sup>b</sup>	103,5 ±	8,3 <sup>a</sup>	105,0	41,6 ±	2,9 <sup>de</sup>	49,0 ±	2,9 <sup>fgh</sup>	17,8	1,2 ±	0,20 <sup>b</sup>	2,1 ±	0,08 <sup>a</sup>	
$\bar{X}$	45,8 ± 1,9		61,4 ± 2,5			35,5	50,4 ± 3,7		56,1 ± 3,4		11,4	0,9 ± 0,08		1,1 ± 0,07	
X <sub>min</sub>	22,0		40,1			6,7	39,0		44,8		1,5	0,6		0,6	
X <sub>max</sub>	83,7		103,6			105,0	68,5		76,6		17,8	1,8		2,1	
CV %	5,04		5,22				8,56		7,15			10,15		7,11	
LSD <sub>0.05</sub>	3,311		4,860				6,183		5,755			0,1360		0,1111	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

Tabela 23. Uticaj PEG-a na sadržaj ukupnih proteina i POD aktivnost u korenu klijanaca introdukovanih populacija kukuruza, promena sadržaja ukupnih proteina i POD aktivnosti tretmana u odnosu na kontrolu (%)

Genotip	PROTEINI ( $\text{mg}_{\text{prot}} \text{g}^{-1}$ sveže mase)					POD ( $\mu\text{mol}_{\text{ferulinske kiseline}} \text{mg}^{-1}_{\text{prot}} \text{min}^{-1}$ )					POD ( $\mu\text{mol}_{\text{ferulinske kiseline}} \text{g}^{-1}$ sveže mase $\text{min}^{-1}$ )					
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman			
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	
P <sub>1</sub>	2,51 ±	0,14 <sup>h</sup>	2,35 ±	0,00 <sup>hi</sup>	-6,4	5,22 ±	0,28 <sup>de</sup>	4,98 ±	0,16 <sup>g</sup>	-4,6	13,09 ±	0,33 <sup>f</sup>	11,71 ±	0,37 <sup>g</sup>	-10,5	
P <sub>2</sub>	3,59 ±	0,00 <sup>b</sup>	3,74 ±	0,08 <sup>a</sup>	4,2	3,17 ±	0,06 <sup>g</sup>	3,02 ±	0,08 <sup>i</sup>	-4,7	11,38 ±	0,20 <sup>h</sup>	11,29 ±	0,29 <sup>g</sup>	-0,8	
P <sub>3</sub>	3,15 ±	0,00 <sup>d</sup>	3,23 ±	0,09 <sup>c</sup>	2,5	2,85 ±	0,01 <sup>g</sup>	2,34 ±	0,09 <sup>j</sup>	-17,9	8,99 ±	0,02 <sup>i</sup>	7,55 ±	0,13 <sup>h</sup>	-16,0	
P <sub>4</sub>	1,99 ±	0,00 <sup>j</sup>	2,30 ±	0,00 <sup>i</sup>	15,6	6,20 ±	0,06 <sup>c</sup>	4,99 ±	0,11 <sup>g</sup>	-19,5	12,33 ±	0,11 <sup>g</sup>	11,48 ±	0,24 <sup>g</sup>	-6,9	
P <sub>5</sub>	2,91 ±	0,00 <sup>f</sup>	2,94 ±	0,00 <sup>d</sup>	1,0	6,19 ±	0,06 <sup>c</sup>	6,19 ±	0,24 <sup>d</sup>	0,0	18,03 ±	0,16 <sup>c</sup>	18,19 ±	0,72 <sup>b</sup>	0,9	
P <sub>6</sub>	2,47 ±	0,09 <sup>h</sup>	2,22 ±	0,00 <sup>j</sup>	-10,1	7,00 ±	0,33 <sup>b</sup>	7,55 ±	0,17 <sup>b</sup>	7,9	17,27 ±	0,29 <sup>d</sup>	16,77 ±	0,37 <sup>d</sup>	-2,9	
P <sub>7</sub>	3,80 ±	0,00 <sup>a</sup>	3,45 ±	0,08 <sup>b</sup>	-9,2	4,12 ±	0,05 <sup>f</sup>	4,54 ±	0,11 <sup>h</sup>	10,2	15,69 ±	0,18 <sup>c</sup>	15,67 ±	0,21 <sup>e</sup>	-0,1	
P <sub>8</sub>	2,27 ±	0,00 <sup>i</sup>	2,51 ±	0,00 <sup>g</sup>	10,6	6,95 ±	0,22 <sup>b</sup>	6,18 ±	0,01 <sup>d</sup>	-11,1	15,77 ±	0,51 <sup>c</sup>	15,53 ±	0,02 <sup>e</sup>	-1,5	
P <sub>9</sub>	3,44 ±	0,00 <sup>c</sup>	2,64 ±	0,00 <sup>f</sup>	-23,3	5,57 ±	0,13 <sup>d</sup>	6,29 ±	0,07 <sup>d</sup>	12,9	19,16 ±	0,43 <sup>b</sup>	16,59 ±	0,19 <sup>d</sup>	-13,4	
P <sub>10</sub>	2,75 ±	0,00 <sup>g</sup>	2,87 ±	0,08 <sup>c</sup>	4,4	6,20 ±	0,15 <sup>c</sup>	5,45 ±	0,14 <sup>f</sup>	-12,1	17,04 ±	0,42 <sup>d</sup>	15,65 ±	0,11 <sup>e</sup>	-8,2	
P <sub>11</sub>	3,04 ±	0,00 <sup>e</sup>	2,39 ±	0,00 <sup>h</sup>	-21,4	4,33 ±	0,13 <sup>f</sup>	5,73 ±	0,08 <sup>e</sup>	32,3	13,15 ±	0,38 <sup>f</sup>	13,68 ±	0,19 <sup>f</sup>	4,0	
P <sub>12</sub>	3,11 ±	0,04 <sup>de</sup>	2,53 ±	0,00 <sup>g</sup>	-18,6	5,00 ±	0,08 <sup>e</sup>	6,91 ±	0,12 <sup>c</sup>	38,2	15,54 ±	0,12 <sup>e</sup>	17,52 ±	0,30 <sup>c</sup>	12,7	
P <sub>13</sub>	1,30 ±	0,08 <sup>k</sup>	1,22 ±	0,00 <sup>k</sup>	-6,2	17,26 ±	1,09 <sup>a</sup>	19,45 ±	0,44 <sup>a</sup>	12,7	22,40 ±	0,22 <sup>a</sup>	23,74 ±	0,54 <sup>a</sup>	6,0	
$\bar{X}$	2,80 ± 0,03		2,65 ± 0,03			-4,38	6,16 ± 0,20		6,43 ± 0,14			3,41	15,37 ± 0,26		15,03 ± 0,28	-2,82
X <sub>min</sub>	1,30		1,22			1,0	2,85		2,34			0,0	8,99		7,55	-0,1
X <sub>max</sub>	3,80		3,74			-18,6	17,26		19,45			38,2	22,40		23,74	-16,0
CV %	1,93		1,82				5,47		2,72				1,87		2,29	
LSD <sub>0.05</sub>	0,0786		0,0641				0,4842		0,2525				0,4107		0,4926	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

### 6.4.1.3 Introdokovane inbred linije kukuruza

Prosečno smanjenje dužine korena pod uticajem PEG-a je bilo 18,8%, i kretalo se u intervalu od 1,1% kod genotipa L<sub>14</sub>, do 40,1% kod genotipa L<sub>2</sub> (tabela 24). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je bio neznatno izraženiji, sa prosečnim smanjenjem dužine lista od 20,0%, krećući se u intervalu od 5,2% kod genotipa L<sub>14</sub>, do 45,3% kod genotipa L<sub>2</sub>. Prosečan odnos dužine korena i lista je bio veći u tretmanu (2,1), sa istim intervalom variranja kao u kontroli (od 1,3 do 3,0). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za dužinu korena i lista (i u kontroli i u tretmanu), je bila kod genotipa L<sub>6</sub>, dok je za odnos dužine korena i lista, bila najveća kod genotipa L<sub>10</sub>.

Prosečno smanjenje sveže mase korena pod uticajem PEG-a je bilo 33,2%, i kretalo se u intervalu od 6,8% kod genotipa L<sub>10</sub>, do 62,0% kod genotipa L<sub>2</sub> (tabela 25). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je bio neznatno slabiji, sa prosečnim smanjenjem sveže mase lista od 31,1%, krećući se u intervalu od 2,6% kod genotipa L<sub>8</sub>, do 64,2% kod genotipa L<sub>2</sub>. Prosečan odnos sveže mase korena i lista je bio isti u kontroli i tretmanu (0,6) i sa istim intervalom variranja (od 0,4 do 0,8). Kod svih genotipova je utvrđena statistički značajna razlika za svežu masu korena i lista, kao i za odnos sveže mase korena i lista (i u kontroli i u tretmanu). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za svežu masu korena i lista, kao i za odnos sveže mase korena i lista, je bila kod genotipa L<sub>6</sub>.

Prosečno povećanje suve mase korena pod uticajem PEG-a je bilo 22,2%, i kretalo se u intervalu od 0,5% smanjenja kod genotipa L<sub>12</sub>, do 61,8% povećanja kod genotipa L<sub>6</sub> (tabela 26). Efekat PEG-a u nadzemnom delu je uslovio prosečno povećanje suve mase za 11,4%, pri intervalu variranja od 0,4 % smanjenja kod genotipa L<sub>13</sub>, do 41,6% povećanja kod genotipa L<sub>2</sub>. Prosečan odnos suve mase korena i lista je bio veći u tretmanu (0,8), sa intervalom variranja od 0,7 do 0,9. I u kontroli i u tretmanu, u odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za suhu masu korena, kao i za odnos suve mase korena i lista, je bila kod genotipa L<sub>14</sub>, dok je za suhu masu lista, najveća statistički značajna razlika bila kod genotipa L<sub>12</sub>.

Prosečno povećanje sadržaja prolina pod uticajem PEG-a je bilo 59,2% i kretalo se u intervalu od 22,0% smanjenja kod genotipa L<sub>11</sub>, do 150,1% povećanja kod genotipa L<sub>2</sub> (tabela 27). Efekat PEG-a na sadržaj prolina u nadzemnom delu je bio znatno slabije izražen, sa prosečnim povećanjem sadržaja prolina u listu od 29,1%, a kretalo se u

intervalu od 28,4% smanjenja kod genotipa L<sub>9</sub>, do 152,5% povećanja kod genotipa L<sub>6</sub>. Prosečan odnos sadržaja prolina u korenu i listu je bio veći u tretmanu (1,7) i sa znatno većim intervalom variranja u odnosu na kontrolu (od 0,7 do 4,7). I u kontroli i u tretmanu, u odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za sadržaj prolina u korenu i listu, kao i za odnos sadržaja prolina korena i lista, je bila kod genotipa L<sub>8</sub>.

Kod polovine ispitivanih genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina, koje se kretalo u intervalu od 0,5% kod genotipa L<sub>15</sub>, do 28,2% kod genotipa L<sub>9</sub>, dok je kod druge polovine ispitivanih genotipa došlo do povećanja sadržaja ukupnih proteina u intervalu od 3,3% kod genotipa L<sub>14</sub>, do 67,7% kod genotipa L<sub>4</sub> (tabela 28). U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za sadržaj ukupnih proteina u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa L<sub>14</sub>.

Kod polovine ispitivanih genotipova, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje specifične aktivnosti peroksidaza, koje se kretalo u intervalu od 4,6% kod genotipa L<sub>6</sub>, do 35,8% kod genotipa L<sub>4</sub>, dok je kod druge polovine ispitivanih genotipa došlo do povećanja specifične POD aktivnosti u intervalu od 6,6% kod genotipa L<sub>7</sub>, do 42,4% kod genotipa L<sub>9</sub>. Kod svih genotipova je utvrđena značajna razlika za specifičnu POD aktivnosti u korenu. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za specifičnu POD aktivnost u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa L<sub>10</sub>.

Pod dejstvom PEG-a, aktivnost POD na gram sveže mase se smanjila kod polovine ispitivanih genotipova i kretala se u intervalu od 2,5% kod genotipa L<sub>13</sub>, do 22,1% kod genotipa L<sub>10</sub>, dok je kod druge polovine ispitivanih genotipa došlo do povećanja aktivnosti POD na gram sveže mase, krećući se u intervalu od 2,1% kod genotipa L<sub>9</sub>, do 28,2% kod genotipa L<sub>14</sub>. U odnosu na sve genotipove ove grupe, najveća statistički značajna razlika za aktivnost POD na gram sveže mase u korenu (i u kontroli i u tretmanu) je bila kod genotipa L<sub>10</sub>.



Tabela 24. Uticaj PEG-a na dužinu (u cm) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih inbred linija kukuruza, promena dužine tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos dužine korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
L <sub>1</sub>	20,0 ±	1,3 <sup>a</sup>	15,0 ±	1,1 <sup>b</sup>	-24,9	6,8 ±	0,6 <sup>def</sup>	5,5 ±	0,6 <sup>d</sup>	-19,1	3,0 ±	0,31 <sup>a</sup>	2,7 ±	0,31 <sup>ab</sup>
L <sub>2</sub>	12,3 ±	0,9 <sup>f</sup>	7,3 ±	0,8 <sup>f</sup>	-40,1	6,4 ±	0,7 <sup>fgh</sup>	3,5 ±	0,4 <sup>g</sup>	-45,3	1,9 ±	0,24 <sup>d</sup>	2,1 ±	0,27 <sup>e</sup>
L <sub>3</sub>	15,3 ±	1,6 <sup>d</sup>	11,8 ±	1,1 <sup>c</sup>	-22,9	7,0 ±	0,7 <sup>de</sup>	5,5 ±	0,4 <sup>d</sup>	-21,4	2,2 ±	0,32 <sup>c</sup>	2,2 ±	0,23 <sup>e</sup>
L <sub>4</sub>	12,4 ±	1,2 <sup>f</sup>	10,9 ±	0,6 <sup>d</sup>	-12,1	6,3 ±	0,7 <sup>gh</sup>	4,9 ±	0,4 <sup>ef</sup>	-22,2	2,0 ±	0,20 <sup>d</sup>	2,2 ±	0,24 <sup>de</sup>
L <sub>5</sub>	13,8 ±	0,9 <sup>e</sup>	10,9 ±	1,3 <sup>d</sup>	-21,0	6,2 ±	0,7 <sup>hi</sup>	4,5 ±	0,4 <sup>f</sup>	-27,4	2,3 ±	0,37 <sup>c</sup>	2,4 ±	0,18 <sup>cd</sup>
L <sub>6</sub>	9,3 ±	0,8 <sup>i</sup>	6,5 ±	0,8 <sup>g</sup>	-30,1	5,8 ±	0,5 <sup>i</sup>	3,6 ±	0,4 <sup>g</sup>	-37,9	1,6 ±	0,16 <sup>e</sup>	1,9 ±	0,29 <sup>f</sup>
L <sub>7</sub>	16,8 ±	1,5 <sup>c</sup>	11,1 ±	0,8 <sup>cd</sup>	-33,9	7,8 ±	0,8 <sup>b</sup>	5,2 ±	0,6 <sup>de</sup>	-33,3	2,2 ±	0,38 <sup>c</sup>	2,1 ±	0,25 <sup>e</sup>
L <sub>8</sub>	12,1 ±	0,9 <sup>fg</sup>	10,8 ±	1,0 <sup>d</sup>	-10,7	6,7 ±	0,4 <sup>efg</sup>	6,2 ±	0,5 <sup>c</sup>	-7,5	1,8 ±	0,16 <sup>d</sup>	1,8 ±	0,21 <sup>fg</sup>
L <sub>9</sub>	11,4 ±	1,3 <sup>gh</sup>	10,4 ±	1,0 <sup>de</sup>	-8,8	7,6 ±	0,5 <sup>bc</sup>	7,2 ±	0,5 <sup>b</sup>	-5,3	1,5 ±	0,22 <sup>e</sup>	1,5 ±	0,18 <sup>h</sup>
L <sub>10</sub>	9,4 ±	0,8 <sup>i</sup>	8,1 ±	0,9 <sup>f</sup>	-13,8	7,2 ±	0,6 <sup>cd</sup>	6,4 ±	0,7 <sup>c</sup>	-11,1	1,3 ±	0,15 <sup>f</sup>	1,3 ±	0,14 <sup>i</sup>
L <sub>11</sub>	10,9 ±	1,3 <sup>h</sup>	9,7 ±	1,2 <sup>e</sup>	-11,0	7,0 ±	0,8 <sup>de</sup>	6,1 ±	0,5 <sup>c</sup>	-12,9	1,6 ±	0,13 <sup>e</sup>	1,6 ±	0,26 <sup>gh</sup>
L <sub>12</sub>	13,7 ±	1,2 <sup>e</sup>	10,8 ±	1,2 <sup>d</sup>	-21,2	6,2 ±	0,6 <sup>h</sup>	4,9 ±	0,4 <sup>ef</sup>	-21,0	2,2 ±	0,28 <sup>c</sup>	2,2 ±	0,33 <sup>de</sup>
L <sub>13</sub>	15,9 ±	0,9 <sup>d</sup>	14,6 ±	1,0 <sup>b</sup>	-8,2	6,1 ±	0,4 <sup>hi</sup>	5,1 ±	0,4 <sup>e</sup>	-16,4	2,6 ±	0,17 <sup>b</sup>	2,9 ±	0,27 <sup>a</sup>
L <sub>14</sub>	18,9 ±	1,6 <sup>b</sup>	18,7 ±	2,1 <sup>a</sup>	-1,1	7,7 ±	0,6 <sup>b</sup>	7,3 ±	0,6 <sup>b</sup>	-5,2	2,5 ±	0,29 <sup>b</sup>	2,6 ±	0,29 <sup>bc</sup>
L <sub>15</sub>	19,1 ±	1,6 <sup>b</sup>	14,9 ±	1,5 <sup>b</sup>	-22,0	9,7 ±	0,5 <sup>a</sup>	8,3 ±	0,9 <sup>a</sup>	-14,4	2,0 ±	0,17 <sup>d</sup>	1,8 ±	0,29 <sup>f</sup>
$\bar{X}$	14,1 ± 1,2		11,4 ± 1,1		-18,8	7,0 ± 0,6		5,6 ± 0,5		-20,0	2,0 ± 0,24		2,1 ± 0,25	
X <sub>min</sub>	9,3		6,5		-1,1	5,8		3,5		-5,2	1,3		1,3	
X <sub>max</sub>	20,0		18,7		-40,1	9,7		8,3		-45,3	3,0		2,9	
CV %	8,62		9,74			8,73		9,73			12,05		12,37	
LSD <sub>0.05</sub>	0,874		0,802			0,437		0,393			0,1779		0,1850	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 25. Uticaj PEG-a na svežu masu (u mg) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih inbred linija kukuruza, promena sveže mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sveže mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
L <sub>1</sub>	118,5 ±	5,2 <sup>g</sup>	66,3 ±	6,8 <sup>h</sup>	-44,1	190,3 ±	1,2 <sup>k</sup>	127,4 ±	3,2 <sup>k</sup>	-33,0	0,6 ±	0,02 <sup>cde</sup>	0,5 ±	0,06 <sup>e</sup>
L <sub>2</sub>	139,9 ±	7,0 <sup>d</sup>	53,2 ±	2,7 <sup>i</sup>	-62,0	219,0 ±	1,2 <sup>h</sup>	78,5 ±	0,5 <sup>o</sup>	-64,2	0,6 ±	0,03 <sup>bcd</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>bc</sup>
L <sub>3</sub>	144,9 ±	4,1 <sup>d</sup>	65,6 ±	5,8 <sup>h</sup>	-54,7	234,0 ±	2,7 <sup>g</sup>	150,2 ±	1,5 <sup>i</sup>	-35,8	0,6 ±	0,02 <sup>cde</sup>	0,4 ±	0,04 <sup>fg</sup>
L <sub>4</sub>	110,3 ±	9,3 <sup>h</sup>	55,7 ±	4,3 <sup>i</sup>	-49,5	170,1 ±	1,0 <sup>m</sup>	112,6 ±	1,7 <sup>m</sup>	-33,8	0,6 ±	0,05 <sup>bc</sup>	0,5 ±	0,04 <sup>e</sup>
L <sub>5</sub>	145,0 ±	3,3 <sup>d</sup>	83,9 ±	4,6 <sup>f</sup>	-42,1	204,0 ±	1,1 <sup>i</sup>	133,0 ±	1,1 <sup>j</sup>	-34,8	0,7 ±	0,02 <sup>a</sup>	0,6 ±	0,03 <sup>cd</sup>
L <sub>6</sub>	81,3 ±	6,5 <sup>i</sup>	32,0 ±	3,7 <sup>j</sup>	-60,6	172,5 ±	1,4 <sup>l</sup>	81,4 ±	1,3 <sup>n</sup>	-52,8	0,5 ±	0,04 <sup>g</sup>	0,4 ±	0,05 <sup>g</sup>
L <sub>7</sub>	142,7 ±	7,3 <sup>d</sup>	71,2 ±	6,0 <sup>g</sup>	-50,1	275,0 ±	1,4 <sup>d</sup>	166,1 ±	1,2 <sup>h</sup>	-39,6	0,5 ±	0,03 <sup>f</sup>	0,4 ±	0,03 <sup>fg</sup>
L <sub>8</sub>	121,0 ±	4,8 <sup>fg</sup>	95,0 ±	6,9 <sup>e</sup>	-21,5	196,2 ±	1,5 <sup>j</sup>	191,2 ±	1,9 <sup>f</sup>	-2,6	0,6 ±	0,02 <sup>cde</sup>	0,5 ±	0,03 <sup>e</sup>
L <sub>9</sub>	161,1 ±	4,8 <sup>bc</sup>	132,2 ±	1,8 <sup>b</sup>	-17,9	265,4 ±	2,5 <sup>e</sup>	214,0 ±	1,2 <sup>d</sup>	-19,4	0,6 ±	0,02 <sup>de</sup>	0,6 ±	0,01 <sup>d</sup>
L <sub>10</sub>	125,9 ±	1,8 <sup>ef</sup>	117,4 ±	1,6 <sup>c</sup>	-6,8	334,1 ±	1,2 <sup>a</sup>	264,4 ±	2,7 <sup>b</sup>	-20,9	0,4 ±	0,00 <sup>h</sup>	0,4 ±	0,01 <sup>f</sup>
L <sub>11</sub>	121,8 ±	1,0 <sup>efg</sup>	102,4 ±	1,1 <sup>d</sup>	-15,9	306,8 ±	2,0 <sup>c</sup>	256,0 ±	1,3 <sup>c</sup>	-16,6	0,4 ±	0,01 <sup>h</sup>	0,4 ±	0,01 <sup>fg</sup>
L <sub>12</sub>	128,4 ±	2,0 <sup>e</sup>	99,6 ±	3,0 <sup>d</sup>	-22,4	191,0 ±	0,9 <sup>k</sup>	119,2 ±	1,7 <sup>l</sup>	-37,6	0,7 ±	0,01 <sup>b</sup>	0,8 ±	0,02 <sup>a</sup>
L <sub>13</sub>	154,9 ±	6,9 <sup>c</sup>	141,8 ±	3,3 <sup>a</sup>	-8,5	258,4 ±	1,6 <sup>f</sup>	179,4 ±	1,4 <sup>g</sup>	-30,6	0,6 ±	0,03 <sup>e</sup>	0,8 ±	0,02 <sup>a</sup>
L <sub>14</sub>	164,2 ±	2,0 <sup>b</sup>	144,3 ±	2,7 <sup>a</sup>	-12,1	333,6 ±	1,1 <sup>a</sup>	292,5 ±	1,0 <sup>a</sup>	-12,3	0,5 ±	0,00 <sup>fg</sup>	0,5 ±	0,01 <sup>e</sup>
L <sub>15</sub>	204,9 ±	2,5 <sup>a</sup>	144,5 ±	1,5 <sup>a</sup>	-29,5	314,7 ±	1,4 <sup>b</sup>	210,5 ±	1,2 <sup>e</sup>	-33,1	0,7 ±	0,01 <sup>bc</sup>	0,7 ±	0,01 <sup>b</sup>
$\bar{X}$	137,6 ±	4,6	93,7 ±	3,7	-33,2	244,3 ±	1,5	171,8 ±	1,5	-31,1	0,6 ±	0,02	0,6 ±	0,03
X <sub>min</sub>	81,3		32,0		-6,8	170,1		78,5		-2,6	0,4		0,4	
X <sub>max</sub>	204,9		144,5		-62,0	334,1		292,5		-64,2	0,7		0,8	
CV %	3,71		4,55			0,64		0,95			4,36		5,93	
LSD <sub>0.05</sub>	7,294		3,044			2,248		2,330			0,036		0,047	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 26. Uticaj PEG-a na suhu masu (u mg g<sup>-1</sup> sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih inbred linija kukuruza, promena suve mase tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos suve mase korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
L <sub>1</sub>	61,4 ±	8,2 <sup>bcd</sup>	92,0 ±	18,3 <sup>abc</sup>	49,8	85,8 ±	4,2 <sup>b</sup>	106,9 ±	5,5 <sup>b</sup>	24,6	0,7 ±	0,08 <sup>cde</sup>	0,9 ±	0,13 <sup>abc</sup>
L <sub>2</sub>	57,7 ±	8,6 <sup>cdef</sup>	82,7 ±	15,9 <sup>bcd</sup>	43,3	85,5 ±	5,2 <sup>b</sup>	121,1 ±	19,2 <sup>a</sup>	41,6	0,7 ±	0,12 <sup>ef</sup>	0,7 ±	0,19 <sup>c</sup>
L <sub>3</sub>	65,4 ±	9,2 <sup>b</sup>	102,0 ±	16,5 <sup>ab</sup>	56,0	93,7 ±	3,9 <sup>a</sup>	112,3 ±	6,5 <sup>ab</sup>	19,8	0,7 ±	0,11 <sup>def</sup>	0,9 ±	0,15 <sup>a</sup>
L <sub>4</sub>	48,3 ±	1,1 <sup>h</sup>	74,2 ±	7,9 <sup>cdef</sup>	53,6	77,8 ±	5,1 <sup>de</sup>	89,7 ±	7,1 <sup>cd</sup>	15,3	0,6 ±	0,03 <sup>f</sup>	0,8 ±	0,10 <sup>abc</sup>
L <sub>5</sub>	64,3 ±	5,6 <sup>b</sup>	76,8 ±	10,2 <sup>cde</sup>	19,4	97,2 ±	4,1 <sup>a</sup>	107,0 ±	4,9 <sup>b</sup>	10,1	0,7 ±	0,08 <sup>ef</sup>	0,7 ±	0,12 <sup>bc</sup>
L <sub>6</sub>	63,4 ±	8,4 <sup>bcd</sup>	102,6 ±	32,1 <sup>a</sup>	61,8	82,4 ±	4,2 <sup>bcd</sup>	111,7 ±	6,2 <sup>ab</sup>	35,6	0,8 ±	0,09 <sup>cd</sup>	0,9 ±	0,25 <sup>a</sup>
L <sub>7</sub>	57,2 ±	7,8 <sup>def</sup>	78,8 ±	17,3 <sup>cd</sup>	37,8	78,3 ±	4,3 <sup>cde</sup>	93,3 ±	4,1 <sup>c</sup>	19,2	0,7 ±	0,07 <sup>cde</sup>	0,8 ±	0,17 <sup>abc</sup>
L <sub>8</sub>	55,1 ±	4,9 <sup>efg</sup>	67,6 ±	7,4 <sup>defg</sup>	22,7	77,1 ±	2,2 <sup>e</sup>	73,8 ±	3,8 <sup>f</sup>	-4,3	0,7 ±	0,06 <sup>cde</sup>	0,9 ±	0,12 <sup>a</sup>
L <sub>9</sub>	63,7 ±	5,4 <sup>bc</sup>	59,4 ±	4,7 <sup>efg</sup>	-6,8	83,3 ±	3,9 <sup>bc</sup>	80,9 ±	3,9 <sup>def</sup>	-2,9	0,8 ±	0,08 <sup>cd</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>abc</sup>
L <sub>10</sub>	67,3 ±	5,5 <sup>b</sup>	66,5 ±	6,6 <sup>defg</sup>	-1,2	84,8 ±	3,2 <sup>b</sup>	87,0 ±	3,1 <sup>cde</sup>	2,6	0,8 ±	0,06 <sup>bc</sup>	0,8 ±	0,07 <sup>abc</sup>
L <sub>11</sub>	73,9 ±	3,0 <sup>a</sup>	72,3 ±	7,9 <sup>def</sup>	-2,2	78,2 ±	3,0 <sup>cde</sup>	79,4 ±	3,5 <sup>ef</sup>	1,5	0,9 ±	0,03 <sup>a</sup>	0,9 ±	0,14 <sup>a</sup>
L <sub>12</sub>	56,1 ±	6,6 <sup>efg</sup>	55,8 ±	6,7 <sup>fg</sup>	-0,5	64,4 ±	4,1 <sup>f</sup>	74,0 ±	5,4 <sup>f</sup>	14,9	0,9 ±	0,10 <sup>ab</sup>	0,8 ±	0,07 <sup>abc</sup>
L <sub>13</sub>	54,4 ±	3,6 <sup>fgh</sup>	52,9 ±	4,7 <sup>g</sup>	-2,8	76,1 ±	2,6 <sup>e</sup>	75,8 ±	3,3 <sup>f</sup>	-0,4	0,7 ±	0,05 <sup>cde</sup>	0,7 ±	0,04 <sup>c</sup>
L <sub>14</sub>	49,8 ±	3,8 <sup>gh</sup>	52,2 ±	5,5 <sup>g</sup>	4,8	76,4 ±	2,9 <sup>e</sup>	74,3 ±	2,4 <sup>f</sup>	-2,7	0,7 ±	0,04 <sup>ef</sup>	0,7 ±	0,09 <sup>c</sup>
L <sub>15</sub>	65,9 ±	6,0 <sup>b</sup>	64,4 ±	6,1 <sup>defg</sup>	-2,3	74,7 ±	3,6 <sup>e</sup>	71,4 ±	5,5 <sup>f</sup>	-4,4	0,9 ±	0,06 <sup>a</sup>	0,9 ±	0,05 <sup>ab</sup>
$\bar{X}$	60,3 ± 5,8		73,3 ± 11,2		22,2	81,0 ± 3,8		90,6 ± 5,6		11,4	0,7 ± 0,07		0,8 ± 0,11	
X <sub>min</sub>	48,3		52,2		-0,5	64,4		71,4		-0,4	0,6		0,7	
X <sub>max</sub>	73,9		102,6		61,8	97,2		121,1		41,6	0,9		0,9	
CV %	7,47		18,41			4,47		7,74			8,18		15,99	
LSD <sub>0.05</sub>	6,423		19,26			5,167		10,00			0,087		0,186	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

Tabela 27. Uticaj PEG-a na sadržaj prolina (u  $\mu\text{g g}^{-1}$  sveže mase) korena i nadzemnog dela klijanaca introdukovanih inbred linija kukuruza, promena sadržaja prolina tretmana u odnosu na kontrolu (%) i odnos sadržaja prolina korena i nadzemnog dela

Genotip	KOREN					LIST					KOREN / LIST			
	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman		%	kontrola		tretman	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD		$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
L <sub>1</sub>	103,3 ±	8,6 <sup>d</sup>	169,7 ±	12,6 <sup>c</sup>	64,3	51,8 ±	0,7 <sup>ef</sup>	55,2 ±	0,3 <sup>h</sup>	6,6	2,0 ±	0,19 <sup>a</sup>	3,1 ±	0,24 <sup>b</sup>
L <sub>2</sub>	131,0 ±	1,4 <sup>b</sup>	327,6 ±	30,2 <sup>a</sup>	150,1	62,8 ±	0,7 <sup>d</sup>	69,5 ±	0,7 <sup>f</sup>	10,7	2,1 ±	0,26 <sup>a</sup>	4,7 ±	0,48 <sup>a</sup>
L <sub>3</sub>	75,3 ±	1,0 <sup>e</sup>	176,9 ±	34,4 <sup>c</sup>	134,9	43,7 ±	0,8 <sup>h</sup>	75,5 ±	0,7 <sup>e</sup>	72,8	1,7 ±	0,29 <sup>bc</sup>	2,3 ±	0,47 <sup>c</sup>
L <sub>4</sub>	29,8 ±	2,1 <sup>hi</sup>	63,5 ±	3,7 <sup>g</sup>	113,1	24,2 ±	0,6 <sup>j</sup>	33,0 ±	0,9 <sup>j</sup>	36,4	1,2 ±	0,12 <sup>de</sup>	1,9 ±	0,16 <sup>d</sup>
L <sub>5</sub>	181,2 ±	6,2 <sup>a</sup>	250,3 ±	13,7 <sup>b</sup>	38,1	101,1 ±	0,8 <sup>b</sup>	130,1 ±	4,6 <sup>a</sup>	28,7	1,8 ±	0,05 <sup>b</sup>	1,9 ±	0,17 <sup>d</sup>
L <sub>6</sub>	38,9 ±	4,8 <sup>h</sup>	79,4 ±	5,6 <sup>fg</sup>	104,1	37,3 ±	2,3 <sup>i</sup>	94,2 ±	5,8 <sup>c</sup>	152,5	1,1 ±	0,19 <sup>ef</sup>	0,8 ±	0,11 <sup>hi</sup>
L <sub>7</sub>	78,3 ±	9,0 <sup>e</sup>	158,3 ±	7,1 <sup>c</sup>	102,2	48,6 ±	0,9 <sup>fg</sup>	102,3 ±	3,3 <sup>b</sup>	110,5	1,6 ±	0,16 <sup>bc</sup>	1,5 ±	0,08 <sup>ef</sup>
L <sub>8</sub>	24,6 ±	0,1 <sup>i</sup>	39,9 ±	2,3 <sup>h</sup>	62,2	44,4 ±	0,9 <sup>gh</sup>	44,9 ±	0,9 <sup>h</sup>	1,1	0,6 ±	0,01 <sup>h</sup>	0,7 ±	0,02 <sup>i</sup>
L <sub>9</sub>	72,2 ±	2,1 <sup>ef</sup>	66,3 ±	4,5 <sup>g</sup>	-8,2	130,0 ±	0,7 <sup>a</sup>	93,1 ±	0,4 <sup>c</sup>	-28,4	0,6 ±	0,02 <sup>h</sup>	0,7 ±	0,05 <sup>i</sup>
L <sub>10</sub>	120,5 ±	6,5 <sup>c</sup>	133,5 ±	0,5 <sup>d</sup>	10,8	93,6 ±	0,3 <sup>c</sup>	81,9 ±	0,2 <sup>d</sup>	-12,5	1,3 ±	0,07 <sup>d</sup>	1,6 ±	0,01 <sup>de</sup>
L <sub>11</sub>	76,8 ±	0,7 <sup>e</sup>	59,9 ±	6,4 <sup>g</sup>	-22,0	46,3 ±	0,2 <sup>gh</sup>	46,5 ±	0,5 <sup>i</sup>	0,4	1,7 ±	0,02 <sup>bc</sup>	1,3 ±	0,14 <sup>fg</sup>
L <sub>12</sub>	65,2 ±	2,0 <sup>f</sup>	98,4 ±	8,7 <sup>ef</sup>	50,9	64,8 ±	1,4 <sup>d</sup>	75,5 ±	2,8 <sup>e</sup>	16,5	1,0 ±	0,04 <sup>fg</sup>	1,3 ±	0,17 <sup>fg</sup>
L <sub>13</sub>	49,5 ±	5,5 <sup>g</sup>	72,6 ±	1,2 <sup>g</sup>	46,7	53,1 ±	0,2 <sup>e</sup>	65,6 ±	1,1 <sup>g</sup>	23,5	0,9 ±	0,10 <sup>fg</sup>	1,1 ±	0,01 <sup>gh</sup>
L <sub>14</sub>	49,1 ±	0,9 <sup>g</sup>	65,0 ±	3,7 <sup>g</sup>	32,4	60,8 ±	1,4 <sup>d</sup>	66,5 ±	1,6 <sup>fg</sup>	9,4	0,8 ±	0,13 <sup>g</sup>	1,0 ±	0,03 <sup>hi</sup>
L <sub>15</sub>	98,1 ±	3,8 <sup>d</sup>	106,0 ±	2,4 <sup>e</sup>	8,1	63,5 ±	2,7 <sup>d</sup>	68,6 ±	0,3 <sup>fg</sup>	8,0	1,5 ±	0,12 <sup>c</sup>	1,5 ±	0,04 <sup>ef</sup>
$\bar{X}$	79,6 ± 5,4		124,5 ± 9,1		59,2	61,7 ± 1,0		73,5 ± 1,6		29,1	1,3 ± 0,12		1,7 ± 0,14	
X <sub>min</sub>	24,6		39,9		8,1	24,2		33,0		0,4	0,6		0,7	
X <sub>max</sub>	181,2		327,6		150,1	130,0		130,1		152,5	2,1		4,7	
CV %	8,89		11,15			4,47		3,27			10,77		12,34	
LSD <sub>0.05</sub>	10,00		19,81			4,205		3,472			0,2018		0,2993	

Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju ( $p < 0,05$ )

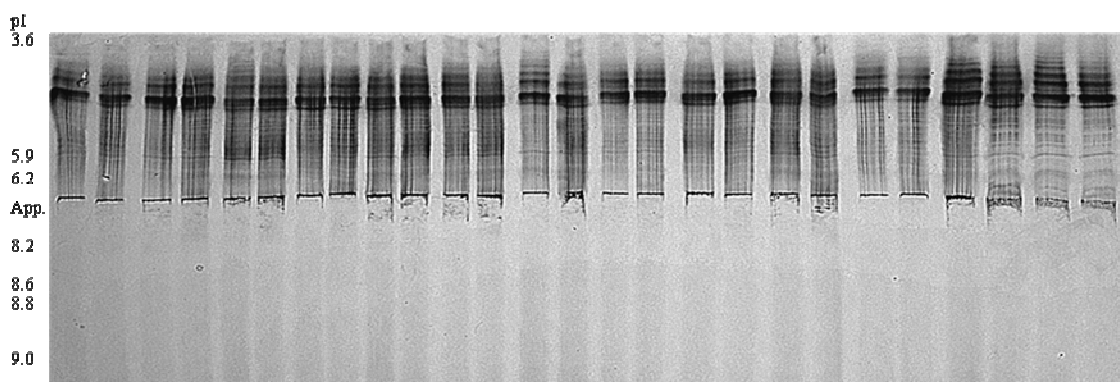
Tabela 28. Uticaj PEG-a na sadržaj ukupnih proteina i POD aktivnost u korenu klijanaca introdukovanih inbred linija kukuruza i promene sadržaja ukupnih proteina i POD aktivnosti tretmana u odnosu na kontrolu (%)

Genotip	PROTEINI (mg <sub>prot</sub> g <sup>-1</sup> sveže mase)					POD (μmol <sub>ferulinske kiseline</sub> mg <sup>-1</sup> prot min <sup>-1</sup> )					POD (μmol <sub>ferulinske kiseline</sub> g <sup>-1</sup> sveže mase min <sup>-1</sup> )					
	kontrola		tretman			kontrola		tretman			kontrola		tretman			
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	%	
L <sub>1</sub>	3,46 ±	0,10 <sup>fg</sup>	3,67 ±	0,19 <sup>ef</sup>	6,1	8,81 ±	0,12 <sup>b</sup>	8,06 ±	0,90 <sup>d</sup>	-8,5	30,49 ±	0,97 <sup>a</sup>	29,47 ±	1,82 <sup>b</sup>	-3,3	
L <sub>2</sub>	2,98 ±	0,10 <sup>h</sup>	2,90 ±	0,10 <sup>gh</sup>	-2,7	8,91 ±	0,62 <sup>b</sup>	8,06 ±	0,20 <sup>d</sup>	-9,5	26,49 ±	1,05 <sup>bc</sup>	23,34 ±	1,04 <sup>f</sup>	-11,9	
L <sub>3</sub>	4,84 ±	0,14 <sup>c</sup>	5,26 ±	0,24 <sup>c</sup>	8,7	2,90 ±	0,06 <sup>f</sup>	2,58 ±	0,17 <sup>f</sup>	-11,0	14,05 ±	0,39 <sup>fg</sup>	13,52 ±	0,34 <sup>g</sup>	-3,8	
L <sub>4</sub>	1,86 ±	0,05 <sup>i</sup>	3,12 ±	0,23 <sup>g</sup>	67,7	7,66 ±	0,27 <sup>c</sup>	4,92 ±	0,38 <sup>gh</sup>	-35,8	14,27 ±	0,52 <sup>f</sup>	15,27 ±	0,13 <sup>h</sup>	7,0	
L <sub>5</sub>	3,43 ±	0,43 <sup>fg</sup>	3,60 ±	0,00 <sup>f</sup>	5,0	4,19 ±	0,38 <sup>e</sup>	3,31 ±	0,03 <sup>b</sup>	-21,0	14,24 ±	0,50 <sup>f</sup>	11,93 ±	0,12 <sup>i</sup>	-16,2	
L <sub>6</sub>	4,84 ±	0,10 <sup>c</sup>	6,54 ±	0,47 <sup>a</sup>	35,1	4,38 ±	0,09 <sup>c</sup>	4,18 ±	0,33 <sup>g</sup>	-4,6	21,17 ±	0,07 <sup>c</sup>	27,22 ±	0,31 <sup>d</sup>	28,6	
L <sub>7</sub>	5,41 ±	0,62 <sup>b</sup>	5,66 ±	0,22 <sup>b</sup>	4,6	2,59 ±	0,34 <sup>f</sup>	2,76 ±	0,12 <sup>b</sup>	6,6	13,83 ±	0,24 <sup>fg</sup>	15,57 ±	0,24 <sup>g</sup>	12,6	
L <sub>8</sub>	2,01 ±	0,10 <sup>i</sup>	2,62 ±	0,09 <sup>hi</sup>	30,3	7,29 ±	0,44 <sup>c</sup>	4,82 ±	0,22 <sup>fg</sup>	-33,9	14,64 ±	0,17 <sup>f</sup>	12,60 ±	0,25 <sup>hi</sup>	-13,9	
L <sub>9</sub>	4,33 ±	0,00 <sup>d</sup>	3,11 ±	0,18 <sup>g</sup>	-28,2	3,04 ±	0,07 <sup>f</sup>	4,33 ±	0,21 <sup>g</sup>	42,4	13,16 ±	0,31 <sup>g</sup>	13,44 ±	0,12 <sup>h</sup>	2,1	
L <sub>10</sub>	5,57 ±	0,29 <sup>ab</sup>	4,03 ±	0,29 <sup>d</sup>	-27,6	1,31 ±	0,10 <sup>g</sup>	1,42 ±	0,11 <sup>i</sup>	8,4	7,30 ±	0,21 <sup>h</sup>	5,69 ±	0,05 <sup>j</sup>	-22,1	
L <sub>11</sub>	5,80 ±	0,10 <sup>a</sup>	5,34 ±	0,08 <sup>bc</sup>	-7,9	4,36 ±	0,05 <sup>e</sup>	5,34 ±	0,10 <sup>f</sup>	22,5	25,25 ±	0,17 <sup>d</sup>	28,52 ±	0,24 <sup>bc</sup>	13,0	
L <sub>12</sub>	3,66 ±	0,18 <sup>f</sup>	3,15 ±	0,32 <sup>g</sup>	-13,9	7,30 ±	0,23 <sup>c</sup>	9,06 ±	0,85 <sup>c</sup>	24,1	26,69 ±	1,08 <sup>bc</sup>	28,38 ±	1,24 <sup>c</sup>	6,3	
L <sub>13</sub>	3,13 ±	0,14 <sup>gh</sup>	2,55 ±	0,22 <sup>i</sup>	-18,5	8,32 ±	0,75 <sup>b</sup>	10,00 ±	1,03 <sup>b</sup>	20,3	25,95 ±	1,21 <sup>cd</sup>	25,30 ±	0,42 <sup>e</sup>	-2,5	
L <sub>14</sub>	2,11 ±	0,20 <sup>i</sup>	2,18 ±	0,13 <sup>j</sup>	3,3	12,05 ±	1,26 <sup>a</sup>	14,90 ±	0,97 <sup>a</sup>	23,7	25,30 ±	0,36 <sup>b</sup>	32,43 ±	0,52 <sup>a</sup>	28,2	
L <sub>15</sub>	4,00 ±	0,33 <sup>dc</sup>	3,98 ±	0,28 <sup>dc</sup>	-0,5	6,35 ±	0,13 <sup>d</sup>	7,27 ±	0,34 <sup>e</sup>	14,5	27,19 ±	0,55 <sup>d</sup>	28,13 ±	1,17 <sup>cd</sup>	3,5	
$\bar{X}$	3,83 ± 0,19		3,85 ± 0,20			4,10	5,96 ± 0,33		6,07 ± 0,40		2,55	20,00 ± 0,52		20,72 ± 0,53		1,85
X <sub>min</sub>	1,86		2,18			-0,5	1,31		1,42		-4,6	7,30		5,69		2,1
X <sub>max</sub>	5,80		6,54			67,7	12,05		14,9		42,4	30,49		32,43		28,6
CV %	6,49		6,13				7,60		8,65			3,17		3,52		
LSD <sub>0.05</sub>	0,3553		0,3377				0,6461		0,7483			0,9048		1,041		

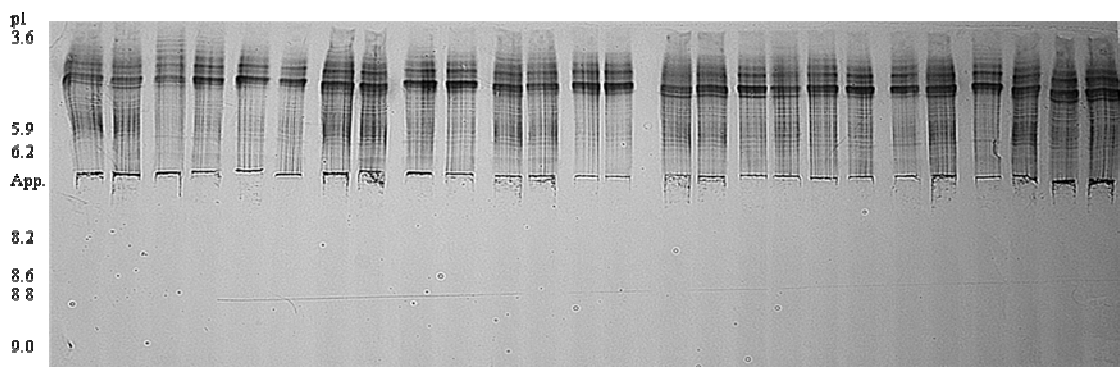
Prosečne vrednosti parametra označene istim slovom unutar svake kolone se statistički ne razlikuju (p<0,05)

## 6.5 Izoelektrično fokusiranje (IEF)

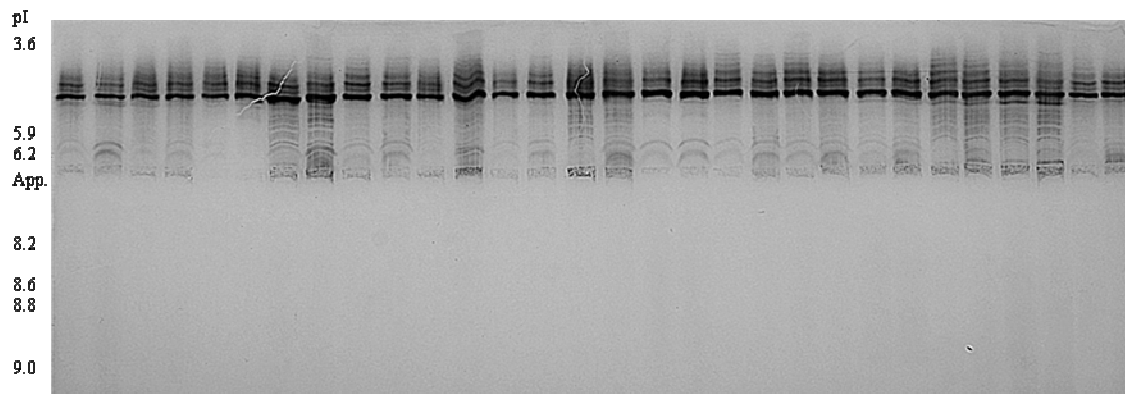
Promene aktivnosti rastvorljivih peroksidaza (POD, EC 1.11.1.7), izolovanih iz homogenata korena klijanaca kukuruza, su analizirane izoelektričnim fokusiranjem, razdvajanjem proteina i analizom POD izoformi, korišćenjem amfolita u opsegu pH 2 - 9. Kod svih genotipova, i u kontroli i u tretmanu, je detektovano prisustvo samo kiselih peroksidaznih izoformi (slika 8, 9 i 10). Povećana aktivnost izoenzima na pI~5,9 pod uticajem PEG-a, najbolje je ispoljena kod introdukovanih inbred linija.



Slika 8. IEF profil uzoraka domaćih populacija kukuruza. Redosled uzoraka s leva na desno: od kontrola, tretman  $K_1$  do kontrola, tretman  $K_{13}$ .



Slika 9. IEF profil uzoraka introdukovanih populacija kukuruza. Redosled uzoraka s leva na desno: od kontrola, tretman  $P_1$  do kontrola, tretman  $P_{13}$ .



Slika 10. IEF profil uzoraka introdukovanih inbred linija kukuruza. Redosled uzoraka s  
leva na desno: od kontrola, tretman L<sub>1</sub> do kontrola, tretman L<sub>15</sub>.

## 6.6 Korelaciona analiza

Stepen povezanosti između promene tretmana u odnosu na kontrolu posmatranih fizioloških i biohemijskih parametara, merenih u korenu i nadzemnom delu klijanaca, kao i između odgovora klijanaca na primenjeni osmotski stres u laboratorijskim uslovima i prinosa / biljci odabranih genotipova kukuruza u poljskim uslovima, je utvrđen na osnovu *Pearson*-ovog koeficijenta korelacije.

### 6.6.1 Korelaciona analiza fiziološko-biohemijskih parametara

#### 6.6.1.1 Domaće populacije kukuruza

Utvrđen je statistički značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene dužine i sveže mase korena ( $r = 0,678^*$ ), kao i statistički značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i sveže mase korena ( $r = -0,566^*$ ). Takođe je utvrđen i statistički visoko značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina i specifične POD aktivnosti ( $r = -0,724^{**}$ ), kao i statistički visoko značajan pozitivan koeficijent korelacije između promena peroksidaznih aktivnosti ( $r = 0,754^{**}$ ).

U nadzemnom delu klijanaca je utvrđen statistički značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i dužine lista ( $r = -0,564^*$ ), kao i statistički značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i suve mase lista ( $r = 0,681^*$ ). Utvrđen je izrazito visoko značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene sveže mase i dužine lista ( $r = 0,811^{***}$ ) i izrazito visoko značajan negativan koeficijent korelacije između promene sveže mase i sadržaja prolina ( $r = -0,850^{***}$ ). Rezultati su prikazani u tabeli 29.



### 6.6.1.2 Introdukovane populacije kukuruza

Utvrđen je statistički značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene dužine i sveže mase korena ( $r = 0,569^*$ ). Utvrđen je izrazito visoko značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja rastvorljivih proteina i aktivnosti POD na gram sveže mase ( $r = -0,870^{***}$ ), kao i statistički visoko značajan pozitivan koeficijent korelacije između promena peroksidaznih aktivnosti ( $r = 0,700^{**}$ ).

U nadzemnom delu klijanaca je utvrđen statistički značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i dužine lista ( $r = -0,628^*$ ), kao i statistički visoko značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i sveže mase lista ( $r = -0,688^{**}$ ). Izrazito visok značajan pozitivan koeficijent korelacija je utvrđen između promene dužine i sveže mase lista ( $r = 0,812^{***}$ ). Rezultati su prikazani u tabeli 30.

### 6.6.1.3 Introdukovane inbred linije kukuruza

Utvrđeni su izrazito visoko značajni pozitivni koeficijenti korelacije između promene dužine i sveže mase korena ( $r = 0,804^{***}$ ) i promene sadržaja prolina i suve mase ( $r = 0,859^{***}$ ), dok su izrazito visoko značajni negativni koeficijenti korelacije bili između promene sadržaja prolina i sveže mase ( $r = -0,823^{***}$ ), i između promena sveže i suve mase ( $r = -0,895^{***}$ ). Utvrđeni su visoko značajni negativni koeficijenti korelacije između promene suve mase i aktivnosti POD na gram sveže mase ( $r = -0,706^{**}$ ), između promene sadržaja rastvorljivih proteina i aktivnosti POD na gram sveže mase ( $r = -0,776^{**}$ ), kao i visoko značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina i suve mase korena ( $r = 0,709^{**}$ ). Značajni pozitivni koeficijenti korelacije su utvrđeni između promene sveže mase i aktivnosti POD na gram sveže mase ( $r = 0,572^*$ ) i između promene sadržaja prolina i ukupnih rastvorljivih proteina ( $r = 0,545^*$ ). Značajni negativni koeficijenti korelacije su bili između promene sadržaja prolina i dužine korena ( $r = -0,635^*$ ), između promene suve mase i dužine korena ( $r = -0,587^*$ ), između promene sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina i sveže mase ( $r = -0,635^*$ ), kao i između promene sadržaja prolina i aktivnosti POD na gram sveže mase ( $r = -0,610^*$ ).

U nadzemnom delu klijanaca je utvrđen izrazito visoko značajan pozitivan koeficijent korelacije između promene dužine i sveže mase lista ( $r = 0,925^{***}$ ), kao i

izrazito visoko značajni negativni koeficijenti korelacije između promene dužine i suve mase lista ( $r = -0,898^{***}$ ) i promene sveže i suve mase lista ( $r = -0,868^{***}$ ). Utvrđen je visoko značajan negativan koeficijent korelacije između promene sadržaja prolina i dužine lista ( $r = -0,641^{**}$ ). Značajan negativan koeficijent korelacije je utvrđen između promene sadržaja prolina i sveže mase ( $r = -0,529^*$ ), dok je značajan pozitivan koeficijent korelacije bio između promene sadržaja prolina i suve mase lista ( $r = 0,575^*$ ). Rezultati su prikazani u tabeli 31.

Tabela 29. Koeficijenti korelacije između promene ispitivanih fizioloških i biohemijskih parametara korena i nadzemnog dela kljanaca kod domaćih populacija kukuruza (%)

	KOREN						LIST			
	D	Sv M	Su M	Pro	Prot	POD P	D	Sv M	Su M	Pro
D	1						1			
Sv M	0,678*	1					0,811***	1		
Su M	0,089	-0,009	1				-0,328	-0,519	1	
Pro	-0,450	-0,566*	0,044	1			-0,564*	-0,850***	0,681*	1
Prot	0,026	0,064	-0,059	0,176	1					
POD P	-0,042	0,013	-0,213	-0,276	-0,724**	1				
POD SvM	0,025	0,164	-0,356	-0,255	-0,100	0,754**				

\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,001$

Legenda: D - dužina; Sv M - sveža masa; Su M - suva masa; pro - prolin; Prot - ukupni proteini; POD Sv M - aktivnost POD  $\text{g}^{-1}$  sveže mase  $\text{min}^{-1}$ ; POD P - aktivnost POD  $\text{mg}^{-1}$  proteina  $\text{min}^{-1}$

Tabela 30. Koeficijenti korelacije između promene ispitivanih fizioloških i biohemijskih parametara korena i nadzemnog dela klijanaca kod introdukovanih populacija kukuruza (%)

	KOREN						LIST			
	D	Sv M	Su M	Pro	Prot	POD P	D	Sv M	Su M	Pro
D	1						1			
Sv M	0,569*	1					0,812***	1		
Su M	-0,125	-0,451	1				0,522	0,357	1	
Pro	0,351	0,312	0,107	1			-0,628*	-0,688**	-0,106	1
Prot	-0,272	-0,120	0,063	-0,408	1					
POD P	0,105	0,071	-0,008	0,497	-0,870***	1				
POD SvM	-0,203	-0,073	0,073	0,434	-0,266	0,700**				

\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,001$

Legenda: D - dužina; Sv M - sveža masa; Su M - suva masa; pro - prolin; Prot - ukupni proteini; POD Sv M - aktivnost POD  $\text{g}^{-1}$  sveže mase  $\text{min}^{-1}$ ; POD P- aktivnost POD  $\text{mg}^{-1}$  proteina  $\text{min}^{-1}$

Tabela 31. Koeficijenti korelacije između promene ispitivanih fizioloških i biohemijskih parametara korena i nadzemnog dela kljjanaca kod introdukovanih inbred linija kukuruza (%)

	KOREN						LIST			
	D	Sv M	Su M	Pro	Prot	POD P	D	Sv M	Su M	Pro
D	1						1			
Sv M	0,804 <sup>***</sup>	1					0,925 <sup>***</sup>	1		
Su M	-0,587 <sup>*</sup>	-0,895 <sup>***</sup>	1				-0,898 <sup>***</sup>	-0,868 <sup>***</sup>	1	
Pro	-0,635 <sup>*</sup>	-0,823 <sup>***</sup>	0,859 <sup>***</sup>	1			-0,641 <sup>**</sup>	-0,529 <sup>*</sup>	0,575 <sup>*</sup>	1
Prot	-0,100	-0,560 <sup>*</sup>	0,709 <sup>**</sup>	0,545 <sup>*</sup>	1					
POD P	0,279	0,572 <sup>*</sup>	-0,706 <sup>**</sup>	-0,610 <sup>*</sup>	-0,776 <sup>**</sup>	1				
POD SvM	0,091	-0,093	0,112	0,003	0,267	0,345				

\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$ ; \*\*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,001$

Legenda: D - dužina; Sv M - sveža masa; Su M - suva masa; pro - prolin; Prot - ukupni proteini; POD Sv M - aktivnost POD  $\text{g}^{-1}$  sveže mase  $\text{min}^{-1}$ ; POD P - aktivnost POD  $\text{mg}^{-1}$  proteina  $\text{min}^{-1}$

## **6.6.2 Korelaciona analiza fiziološko-biohemijskih parametara i prinosa kukuruza u polju**

Predmet korelacione analize bili su svi ispitivani pokazatelji reakcije biljke na uslove osmotskog stresa u kontrolisanim uslovima i prinos zrna / biljci u polju za lokacije Zemun Polje i Skoplje, a grafički su prikazane samo korelacije koje su bile statistički značajne.

### **6.6.2.1 Domaće populacije kukuruza**

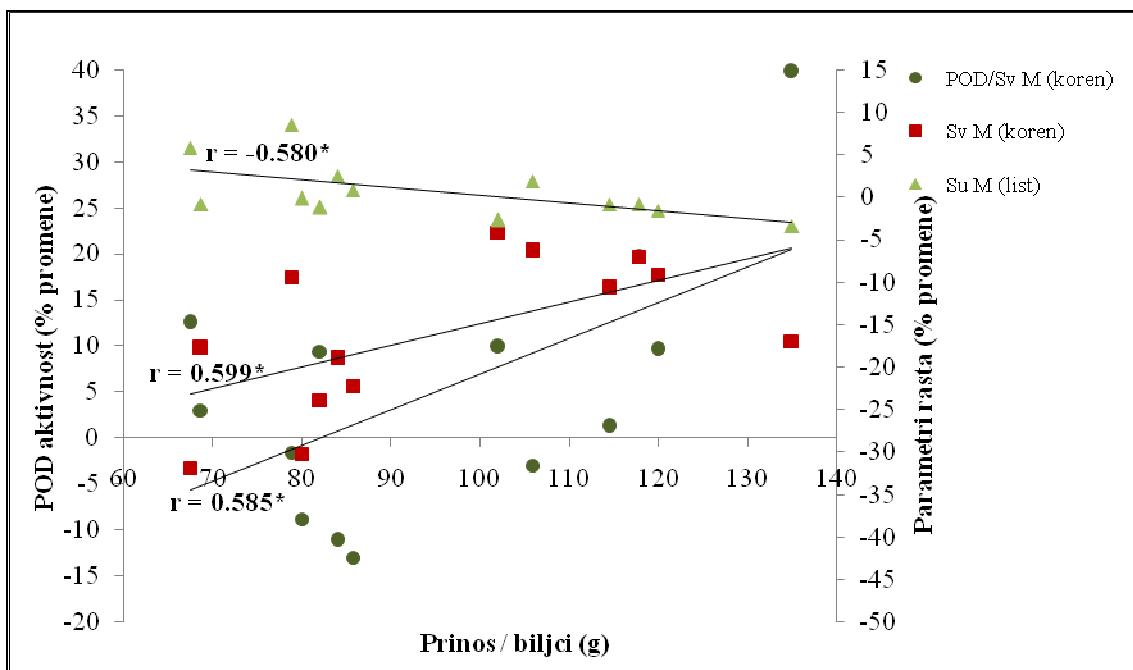
Utvrđene su statistički značajne pozitivne korelacije promene sveže mase korena ( $r = 0,599^*$ ), ukupne aktivnosti peroksidaza ( $r = 0,585^*$ ) kao i statistički značajna negativna korelacija promene suve mase lista klijanaca ( $r = -0,580^*$ ) sa prinosom / biljci u Zemun Polju (grafik 5). Prinos / biljci u Skoplju je bio u statistički značajnoj pozitivnoj korelaciji sa promenama sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina u korenu klijanaca (grafik 6).

### **6.6.2.2 Introdikovane populacije kukuruza**

Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija promene sveže mase korena ( $r = 0,559^*$ ), kao i statistički visoko značajna pozitivna korelacija promene dužine korena klijanaca ( $r = 0,790^{**}$ ) sa prinosom / biljci u Zemun Polju (grafik 7). Isti trend je utvrđen i u Skoplju (grafik 8).

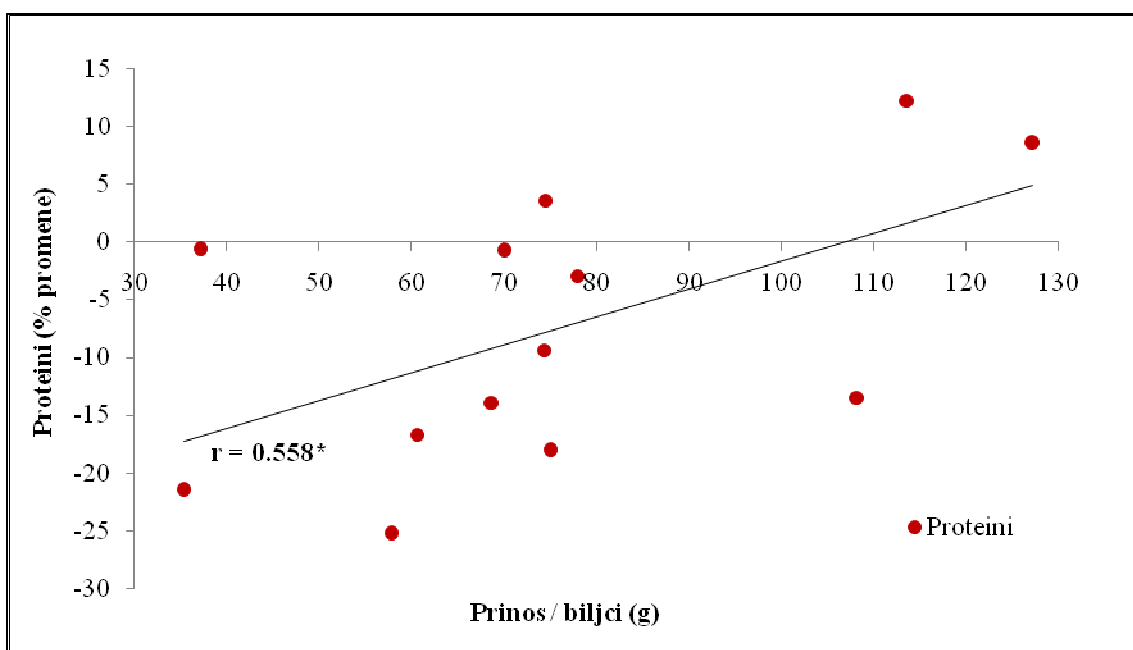
### **6.6.2.3 Introdikovane populacije kukuruza**

Utvrđena je statistički značajna negativna korelacija promene sveže mase korena ( $r = -0,520^*$ ), kao i statistički visoko značajna negativna korelacija promene dužine korena klijanaca ( $r = -0,658^{**}$ ) sa prinosom / biljci u Zemun Polju (grafik 9). Pored istog trenda za svežu masu i dužinu korena klijanaca, utvrđena je i statistički značajna pozitivna korelacija između promene sadržaja prolina u korenu klijanaca i prinosa / biljci u Skoplju (grafik 10).



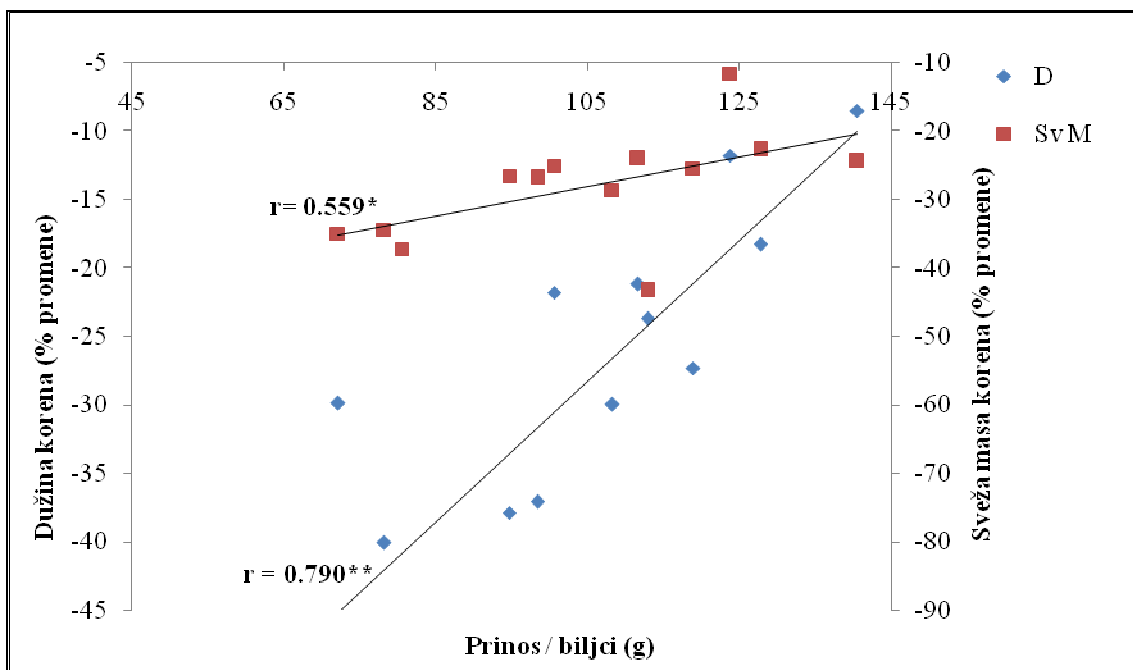
\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$

Grafik 5. Korelacija prinosa domaćih populacija kukuruza (Zemun Polje) sa promenama parametara rasta korena i nadzemnog dela klijanaca i aktivnosti POD na gram sveže mase korena klijanaca pod dejstvom PEG-a



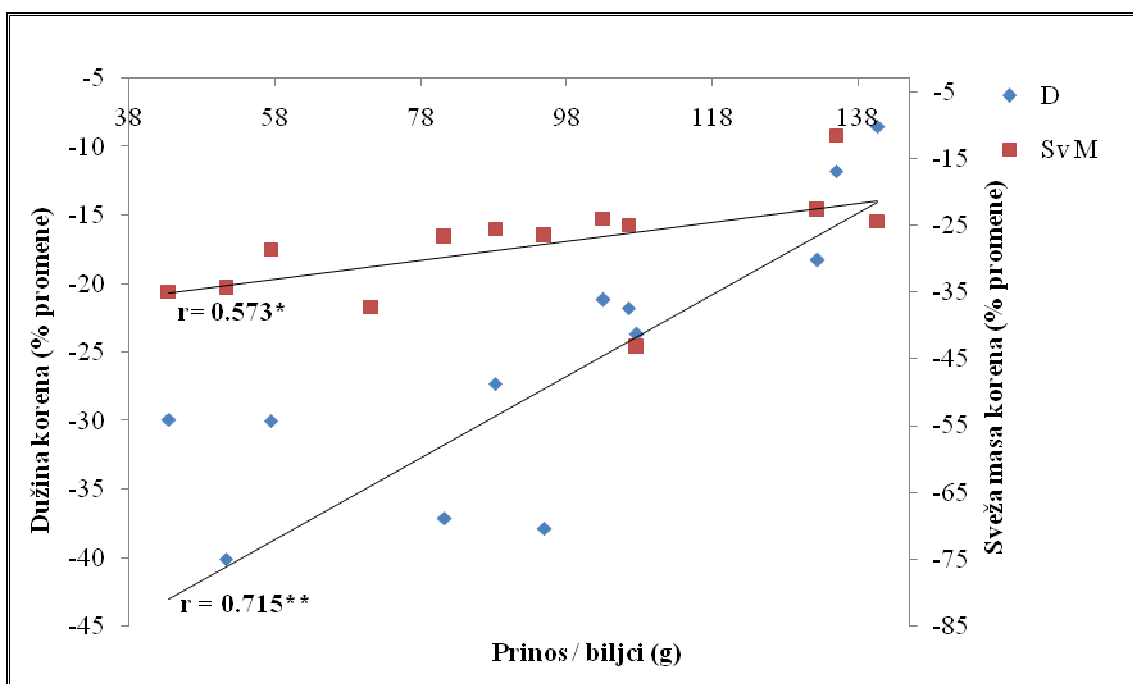
\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$

Grafik 6. Korelacija prinosa domaćih populacija kukuruza (Skoplje) sa promenama sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina u korenu klijanaca pod dejstvom PEG-a



\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$

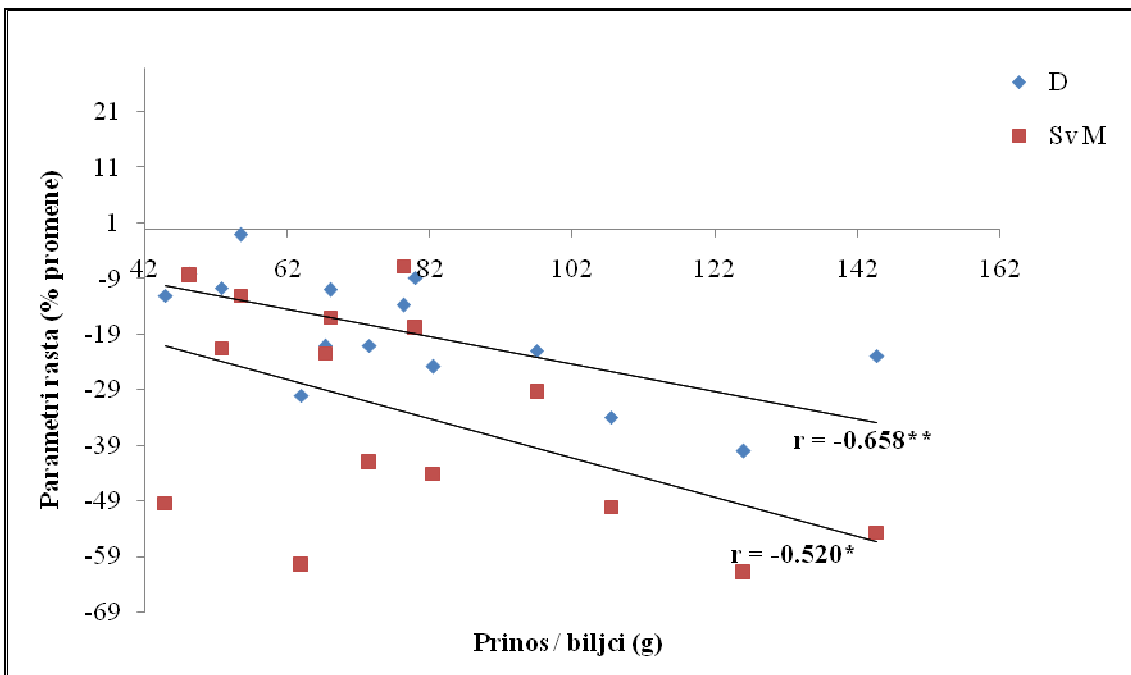
Grafik 7. Korelacija prinosa introdukovanih populacija kukuruza (Zemun Polje) sa promenama dužine i sveže mase korena klijanaca pod dejstvom PEG-a



\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$

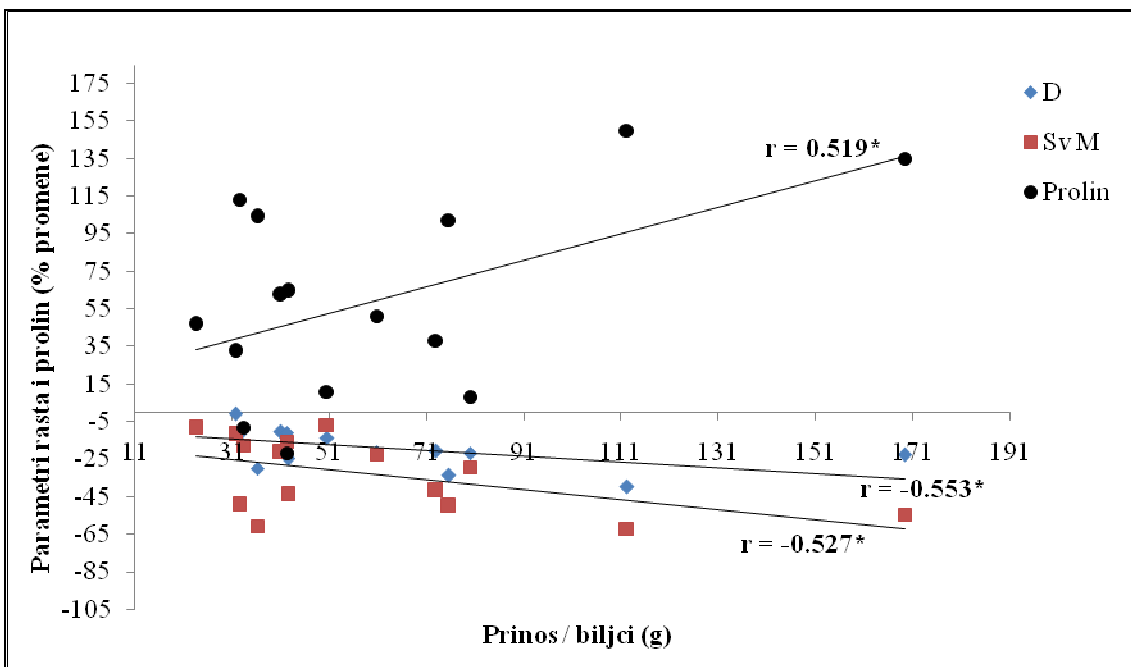
Grafik 8. Korelacija prinosa introdukovanih populacija kukuruza (Skoplje) sa promenama dužine i sveže mase korena klijanaca pod dejstvom PEG-a





\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$ ; \*\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,01$

Grafik 9. Korelacija prinosa introdukovanih inbred linija kukuruza (Zemun Polje) sa promenama dužine i sveže mase korena klijanaca pod dejstvom PEG-a



\* statistički značajna korelacija na  $p < 0,05$

Grafik 10. Korelacija prinosa introdukovanih inbred linija kukuruza (Skoplje) sa promenama dužine, sveže mase i sadržaja prolina u korenu klijanaca pod dejstvom PEG-a

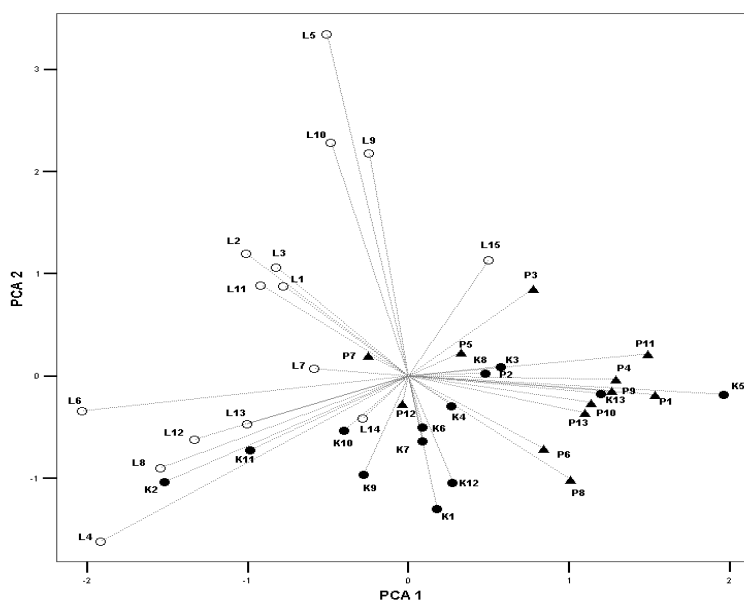
## 6.7 Analiza glavnih komponenti (*Principal Component Analysis - PCA*)

U cilju sveobuhvatnijeg uvida u odgovor biljke na različite uslove spoljašnje sredine (prisustvo i odsustvo osmotikuma u hranljivom rastvoru), primenjena je analiza glavnih komponenti.

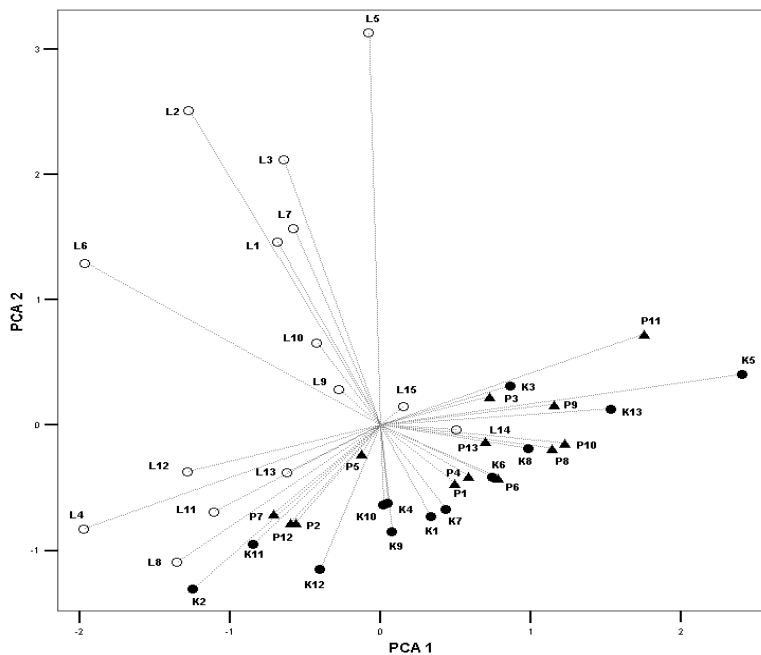
### 6.7.1. PCA fizioloških parametara

Od ukupno 8 (po kontroli i po tretmanu), ekstrahovane su po dve PC ose (glavne komponente) sa Eigen vrednostima  $> 1$ . One objašnjavaju 75,994% (kontrola), odnosno 81,011 % (tretman), respektivno, ukupne varijabilnosti između genotipova na osnovu posmatranih fizioloških svojstava u korenu i nadzemnom delu biljke. PC 1 ose objašnjavaju 55,402% (kontrola), odnosno 67,800% (tretman) varijabilnosti, respektivno, a definisane su dužinom i svežom masom korena i nadzemnog dela klijanaca. PC 2 ose objašnjavaju 20,592% (kontrola), odnosno 13,211% (tretman) varijabilnosti, respektivno, a definisane su sadržajem prolina i suvom masom korena i nadzemnog dela klijanaca.

Iako među genotipovima postoji očigledna varijabilnost u pogledu ispitivanih fizioloških parametara, može se videti da su se oni veoma slično grupisali i u kontroli i u tretmanu (grafik 11 i 12).



Grafik 11. PCA fizioloških parametara korena i nadzemnog dela klijanaca kukuruza u kontroli



Grafik 12. PCA fizioloških parametara korena i nadzemnog dela klijanaca kukuruza u tretmanu

Najveći uticaj na grupisanje genotipova unutar i između svih grupa (domaće populacije, introdukovane populacije i introdukovane inbred linije kukuruza), imala je dužina i sveža masa klijanaca, prvenstveno korena.

Pored najmanje dužine i sveže mase klijanaca u odnosu na obe grupe populacija (osim genotipa L<sub>15</sub> u kontroli), na dodatno izdvajanje linija kao zasebne grupe, uticao je sadržaj prolina koji je, iako viši od sadržaja kod svih populacija, jako varirao unutar linija (od niskog kod genotipova L<sub>4</sub>, L<sub>6</sub>, L<sub>8</sub>, L<sub>12</sub>, L<sub>13</sub>, L<sub>14</sub> i L<sub>15</sub>, do visokog sadržaja kod genotipova L<sub>5</sub> i L<sub>10</sub>). U manjoj meri na izdvajanje genotipova L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>, L<sub>3</sub> i L<sub>11</sub>, je uticao i visok sadržaj suve mase u kombinaciji sa visokim sadržajem prolina.

Na grupisanje domaćih populacija kukuruza, pored niskog sadržaja prolina, najviše je uticala dužina i sveža masa korena i nadzemnog dela. Naročito su se izdvojile dve populacije, K<sub>2</sub> sa najmanjom, odnosno K<sub>5</sub> sa najvećom dužinom i svežom masom klijanca.

Najmanja varijabilnost u pogledu analiziranih fizioloških parametara je utvrđena unutar grupe introdukovanih populacija kukuruza.

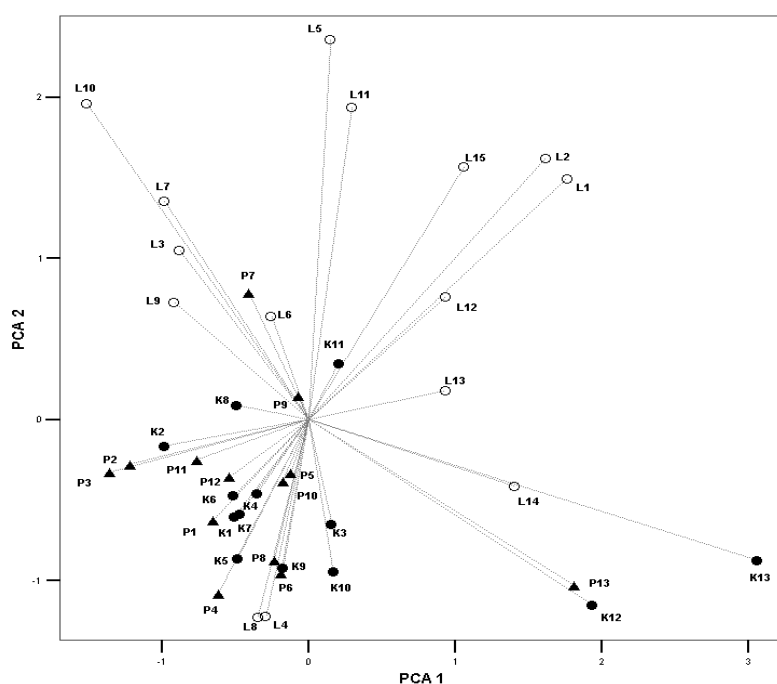
### 6.7.2. PCA biohemijskih parametara

Na osnovu evidentno izraženije reakcije korena klijanaca kukuruza u pogledu akumulacije prolina, urađena je i PCA biohemijskih parametara u korenu.

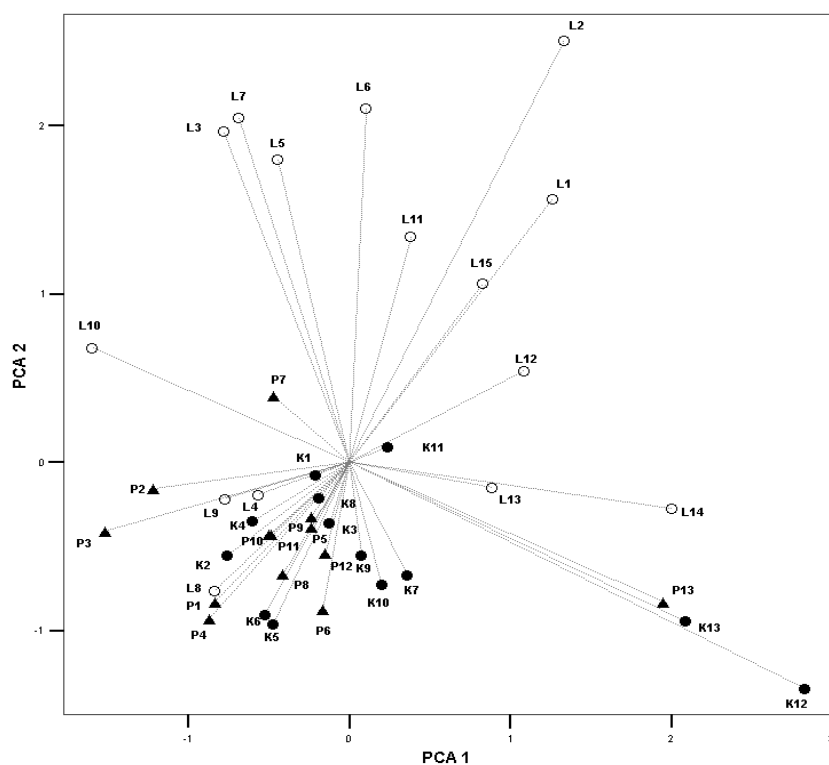
Od ukupno 4 (po kontroli i po tretmanu), ekstrahovane su po dve PC ose sa Eigen vrednostima  $> 1$ , objašnjavajući 84,857% (u kontroli), odnosno 79,816% (u tretmanu), respektivno, ukupne varijabilnosti između genotipova kukuruza na osnovu posmatranih biohemijskih parametara korena klijanaca.

PC 1 ose objašnjavaju 53,755% (kontrola), odnosno 48,979% (tretman) varijabilnosti, respektivno, a definisane su aktivnostima POD (specifične i izražene na gram sveže mase). PC 2 ose objašnjavaju 31,102% (kontrola), odnosno 30,837% (tretman) varijabilnosti, respektivno, a definisane su sadržajem prolina i rastvorljivih proteina.

Konstatovano je izrazito izdvajanje introdukovanih inbred linija kukuruza kao zasebne grupe genotipova, kao i vrlo slično grupisanje svih genotipova i u kontroli i u tretmanu (grafik 13 i 14).



Grafik 13. PCA biohemijskih parametara korena klijanaca kukuruza u kontroli



Grafik 14. PCA biohemijskih parametara korena klijanaca kukuruza u tretmanu

POD aktivnost je imala najveći uticaj na grupisanje genotipova unutar i između svih grupa (domaćih populacija, introdukovanih populacija i introdukovanih inbred linija kukuruza).

Na izdvajanje linija, u definitivno, zasebnu grupu uticao je i visok sadržaj rastvorljivih proteina, kao i veliko variranje u POD aktivnosti ovih genotipova. Izdvajaju se genotipovi L<sub>4</sub> i L<sub>8</sub> sa niskim sadržajem prolina i rastvorljivih proteina, kao i genotip L<sub>14</sub> sa niskim sadržajem prolina i rastvorljivih proteina, ali sa visokom POD aktivnošću.

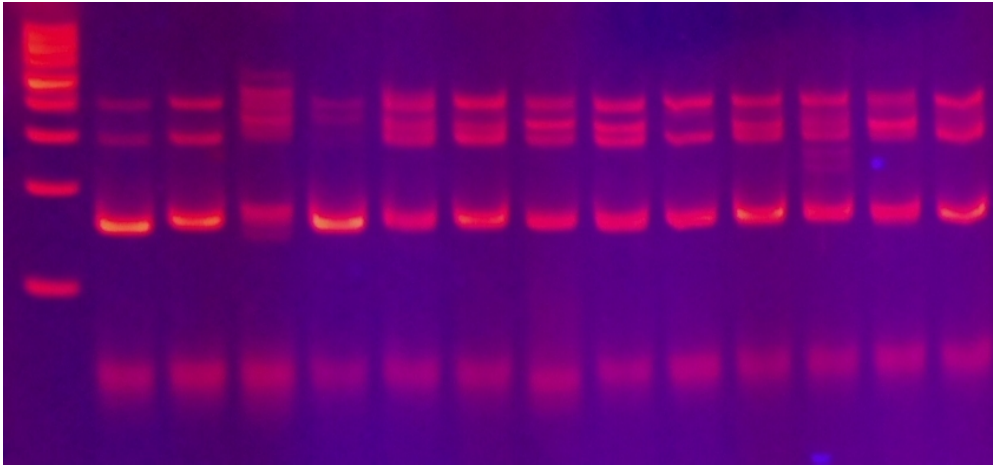
Na grupisanje svih populacija uticao je skoro isti nivo sadržaja rastvorljivih proteina, ali i veća POD aktivnost kod domaćih populacija. Izdvajaju se P<sub>13</sub>, K<sub>12</sub> i K<sub>13</sub> u pogledu niskog sadržaja proteina, kao i visokih POD aktivnosti.

## 6.8 Genetička karakterizacija *core* kolekcije kukuruza za tolerantnost prema suši

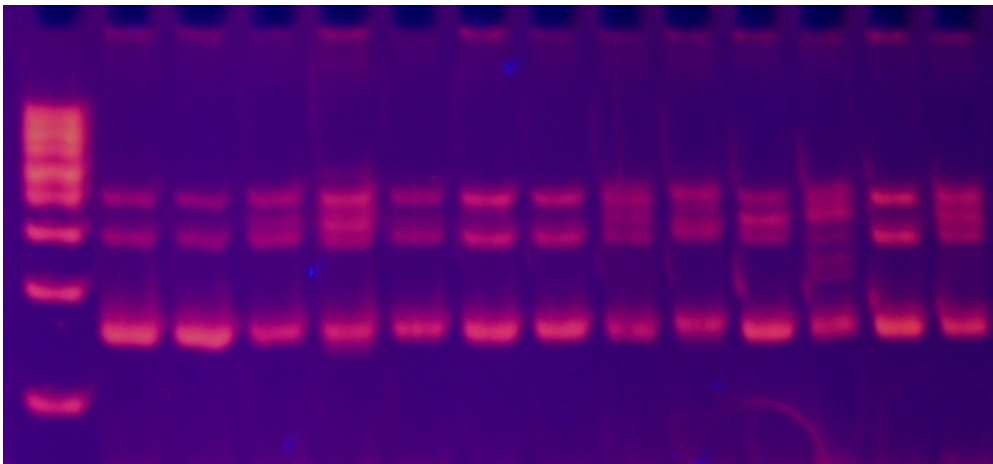
Reproducibilnost SSR profila ispitivanih genotipova je rađena sa 35 SSR molekularnih markera, od kojih je 17 bilo neinformativno jer nije dalo odgovarajuću amplifikaciju kojom bi se mogao pratiti polimorfizam, i time nije korišćeno u daljem radu. Preostalih 18 SSR markera je korišćeno za analizu introdukovanih inbred linija i domaćih populacija, dok su kod introdukovanih populacija dva SSR markera (umc 1013 i umc 1019) bila neinformativna.

Ukupan broj polimorfni traka kod introdukovanih inbred linija je bio 69, čime je u proseku dobijeno 3,8 alela po prajmeru. Pri analizi introdukovanih populacija dobijeno je 85 polimorfni traka sa prosečno 5,3 alela po prajmeru. Kod domaćih populacija je dobijen najveći broj polimorfni traka (155), pa je prosečan broj alela po prajmeru iznosio 8,6.

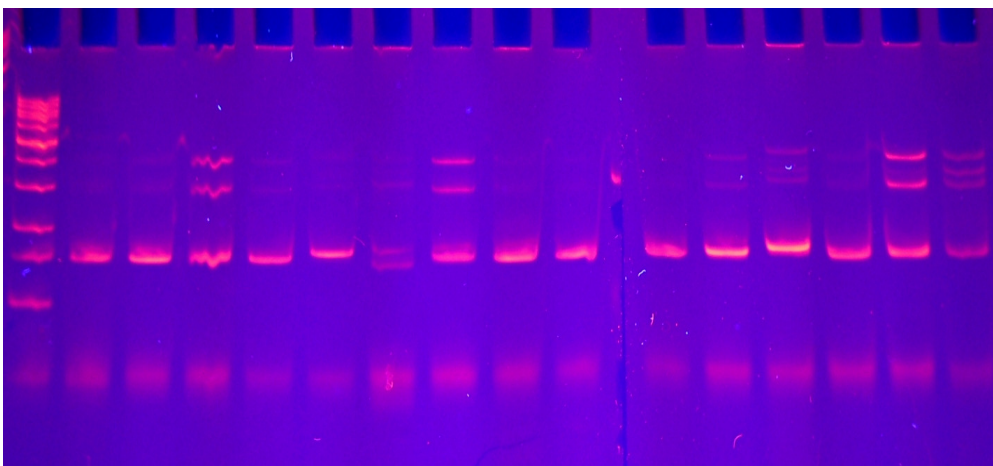
Kod linija, prajmer phi 080 je dao najveći broj SSR fragmenata - 8, dok su prajmeri umc 1013, phi 085 (dao je i najmanji broj SSR fragmenata kod svih populacija - 3) i bnlg 1526 dali samo po 2 fragmenta. Kod introdukovanih populacija prajmer umc 1019 je dao najveći broj SSR fragmenata - 14, za razliku od domaćih populacija, kod kojih je bio neinformativan (slika 11, 12 i 13).



Slika 11. SSR profil uzoraka domaćih populacija kukuruza sa prajmerom phi 080.  
Redosled uzoraka s leva na desno: marker, domaće populacije od K<sub>1</sub> do K<sub>13</sub>.



Slika 12. SSR profil uzoraka introdukovanih populacija kukuruza sa prajmerom phi 080.  
Redosled uzoraka s leva na desno: marker, populacije introdukcije od P<sub>1</sub> do P<sub>13</sub>.



Slika 13. SSR profil uzoraka introdukovanih inbred linija kukuruza sa prajmerom phi 080.  
Redosled uzoraka s leva na desno: marker, introdukovane inbred linije od L<sub>1</sub> do L<sub>15</sub>.

### 6.8.1 Genetička sličnost na osnovu SSR analize kukuruza

Na osnovu prisustva / odsustva SSR fragmenata za ispitivane genotipove kukuruza, izračunati su koeficijenti sličnosti po metodi *Jaccard*-a (1908).

Vrednosti genetičke sličnosti za domaće populacije su se kretale u intervalu od 0,15 za genotipove K<sub>2</sub> i K<sub>10</sub> do 0,58 između genotipova K<sub>5</sub> i K<sub>6</sub> i između genotipova K<sub>6</sub> i K<sub>8</sub> (tabela 32). Prosečna vrednost genetičke sličnosti je iznosila 0,31.

Vrednosti genetičke sličnosti za introdukovane populacije su se kretale u intervalu od 0,40 za genotipove P<sub>4</sub> i P<sub>6</sub> do 0,58 za genotipove P<sub>6</sub> i P<sub>12</sub> (tabela 33). Prosečna vrednost genetičke sličnosti je iznosila 0,54.

Vrednosti genetičke sličnosti za introdukovane inbred linije su se kretale u opsegu od 0,18 za genotipove L<sub>4</sub> i L<sub>15</sub> do 0,55 između genotipova L<sub>8</sub> i L<sub>9</sub>, kao i između genotipova L<sub>13</sub> i L<sub>14</sub> (tabela 34). Prosečna vrednost genetičke sličnosti je iznosila 0,37.

Za sve tri grupe genotipova su izračunati kofenetički koeficijenti korelacije između matrica genetičkih sličnosti po *Jaccard*-u i testirani *Mantel*-ovim testom, (1967). Najbolji stepen poklapanja sličnosti genotipova sa njihovim grupisanjem u klastere je utvrđeno kod grupe domaćih populacija kukuruza ( $r = 0,84$ ), kod inbred linija stepen poklapanja je iznosio  $r = 0,81$ , dok je za grupu introdukovanih populacija, iako dobar, bio najniži ( $r = 0,76$ ).



Tabela 32. Genetička sličnost po *Jaccard*-u za domaće populacije kukuruza

	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	K <sub>3</sub>	K <sub>4</sub>	K <sub>5</sub>	K <sub>6</sub>	K <sub>7</sub>	K <sub>8</sub>	K <sub>9</sub>	K <sub>10</sub>	K <sub>11</sub>	K <sub>12</sub>	K <sub>13</sub>
K <sub>1</sub>	1												
K <sub>2</sub>	0,27	1											
K <sub>3</sub>	0,32	0,27	1										
K <sub>4</sub>	0,19	0,21	0,36	1									
K <sub>5</sub>	0,36	0,27	0,33	0,25	1								
K <sub>6</sub>	0,35	0,26	0,29	0,30	0,58	1							
K <sub>7</sub>	0,27	0,24	0,18	0,21	0,31	0,28	1						
K <sub>8</sub>	0,31	0,27	0,32	0,37	0,51	0,58	0,28	1					
K <sub>9</sub>	0,29	0,30	0,37	0,38	0,38	0,32	0,28	0,43	1				
K <sub>10</sub>	0,25	0,15	0,21	0,27	0,27	0,25	0,19	0,35	0,32	1			
K <sub>11</sub>	0,30	0,25	0,38	0,38	0,35	0,45	0,21	0,49	0,33	0,38	1		
K <sub>12</sub>	0,28	0,18	0,35	0,33	0,31	0,31	0,27	0,34	0,35	0,32	0,41	1	
K <sub>13</sub>	0,28	0,27	0,18	0,19	0,31	0,30	0,28	0,32	0,25	0,20	0,29	0,27	1

Tabela 33. Genetička sličnost po *Jaccard*-u za introdukovane populacije kukuruza

	P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>	P <sub>4</sub>	P <sub>5</sub>	P <sub>6</sub>	P <sub>7</sub>	P <sub>8</sub>	P <sub>9</sub>	P <sub>10</sub>	P <sub>11</sub>	P <sub>12</sub>	P <sub>13</sub>
P <sub>1</sub>	1												
P <sub>2</sub>	0,59	1											
P <sub>3</sub>	0,61	0,55	1										
P <sub>4</sub>	0,46	0,44	0,56	1									
P <sub>5</sub>	0,49	0,56	0,55	0,51	1								
P <sub>6</sub>	0,60	0,71	0,58	0,40	0,72	1							
P <sub>7</sub>	0,53	0,46	0,58	0,54	0,44	0,42	1						
P <sub>8</sub>	0,46	0,47	0,65	0,57	0,54	0,51	0,46	1					
P <sub>9</sub>	0,51	0,57	0,48	0,50	0,54	0,54	0,46	0,55	1				
P <sub>10</sub>	0,52	0,55	0,49	0,53	0,57	0,56	0,45	0,53	0,56	1			
P <sub>11</sub>	0,44	0,45	0,52	0,49	0,47	0,50	0,43	0,60	0,55	0,53	1		
P <sub>12</sub>	0,57	0,64	0,57	0,50	0,68	0,76	0,41	0,50	0,59	0,68	0,64	1	
P <sub>13</sub>	0,55	0,59	0,58	0,54	0,58	0,65	0,43	0,59	0,63	0,57	0,62	0,66	1

Tabela 34. Genetička sličnost po *Jaccard*-u za introdukovane inbred linije kukuruza

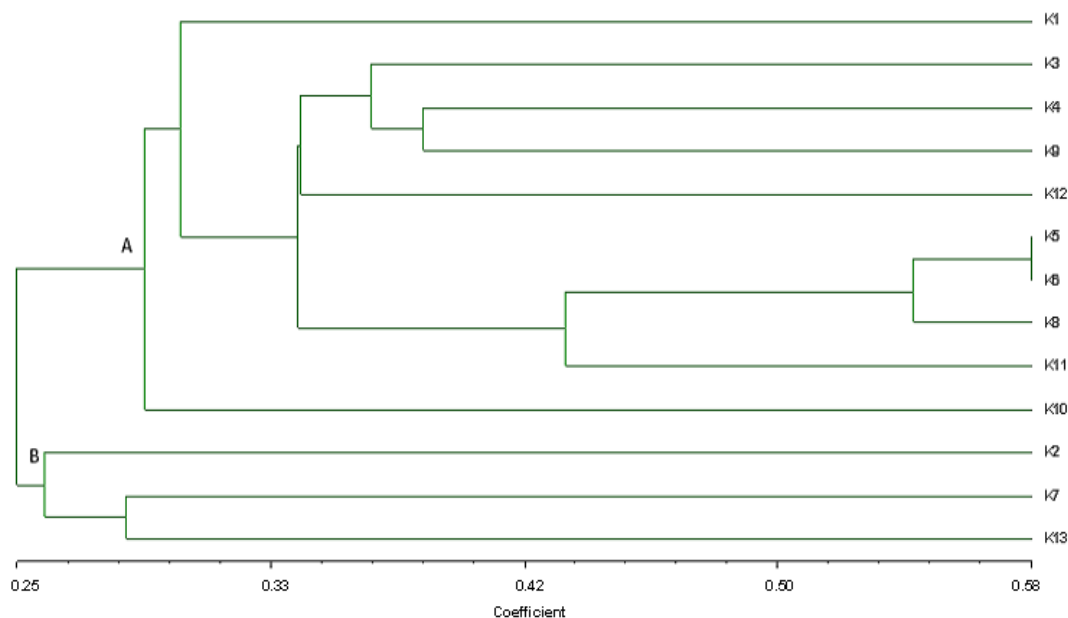
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>	L <sub>5</sub>	L <sub>6</sub>	L <sub>7</sub>	L <sub>8</sub>	L <sub>9</sub>	L <sub>10</sub>	L <sub>11</sub>	L <sub>12</sub>	L <sub>13</sub>	L <sub>14</sub>	L <sub>15</sub>
L <sub>1</sub>	1														
L <sub>2</sub>	0,46	1													
L <sub>3</sub>	0,41	0,37	1												
L <sub>4</sub>	0,33	0,33	0,31	1											
L <sub>5</sub>	0,43	0,30	0,28	0,41	1										
L <sub>6</sub>	0,20	0,21	0,24	0,38	0,37	1									
L <sub>7</sub>	0,40	0,33	0,41	0,26	0,29	0,26	1								
L <sub>8</sub>	0,52	0,40	0,42	0,44	0,30	0,31	0,46	1							
L <sub>9</sub>	0,44	0,45	0,37	0,33	0,33	0,26	0,33	0,55	1						
L <sub>10</sub>	0,32	0,28	0,30	0,22	0,30	0,22	0,41	0,38	0,36	1					
L <sub>11</sub>	0,31	0,40	0,33	0,29	0,33	0,26	0,40	0,32	0,39	0,41	1				
L <sub>12</sub>	0,41	0,50	0,38	0,23	0,34	0,30	0,37	0,37	0,53	0,30	0,48	1			
L <sub>13</sub>	0,62	0,39	0,44	0,38	0,26	0,38	0,53	0,61	0,48	0,38	0,39	0,48	1		
L <sub>14</sub>	0,42	0,50	0,43	0,36	0,26	0,33	0,46	0,47	0,47	0,35	0,34	0,46	0,55	1	
L <sub>15</sub>	0,37	0,32	0,35	0,18	0,24	0,21	0,47	0,39	0,34	0,26	0,34	0,41	0,45	0,47	1

## 6.8.2 Klaster analiza

Na osnovu matrica genetičkih sličnosti po *Jaccard-u*, za sve tri grupe genotipova je urađena klaster analiza UPGMA (*unweighted pair-group mean arithmetic method*) metodom grupisanja. Rezultati su predstavljeni u formi dendrograma.

### 6.8.2.1 Klaster analiza domaćih populacija kukuruza

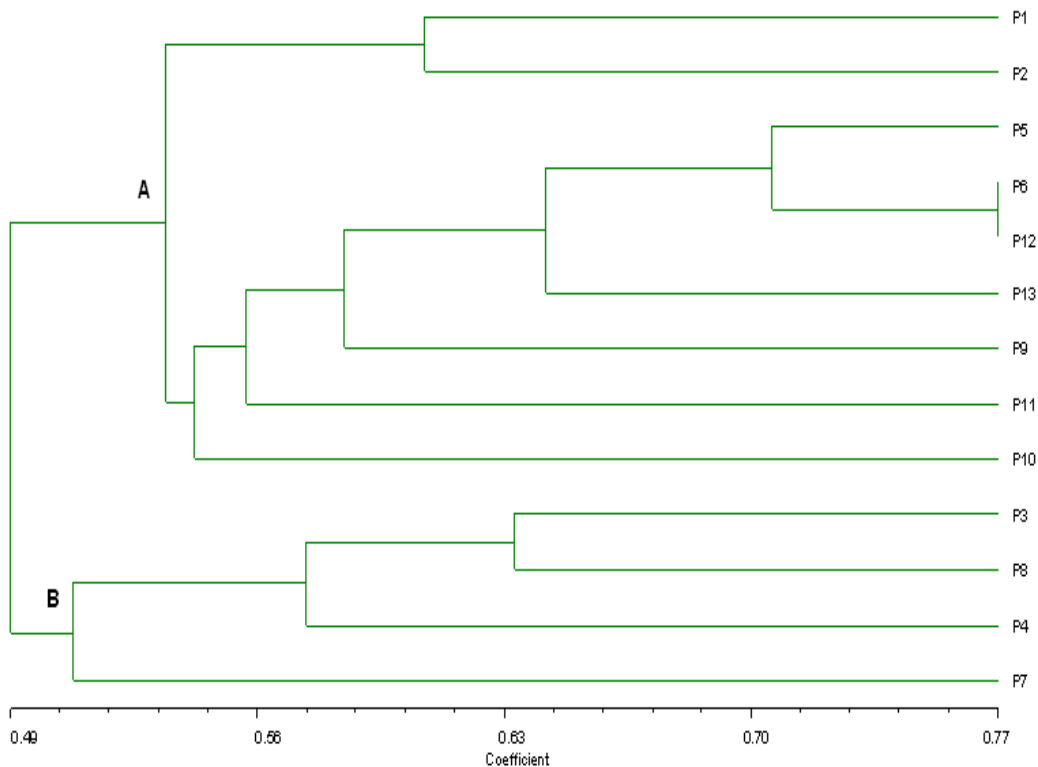
Sam izgled dendrograma, koga čine klasteri A i B, ukazuje na genetički veoma različite populacije. Kao međusobno najbližijim, populacijama K<sub>5</sub> i K<sub>6</sub> se pridružuje K<sub>8</sub>, a zatim i K<sub>11</sub>. Populacijama K<sub>4</sub> i K<sub>9</sub> se prvo pridružuje K<sub>3</sub>, zatim K<sub>12</sub>, nakon čega se pridružuju prethodno grupisanim populacijama. Zatim im se prvo pridružuje populacija K<sub>1</sub>, a naknadno se vezuje i populacija K<sub>10</sub> i time je formiran klaster A. Klaster B čine populacije K<sub>7</sub> i K<sub>13</sub>, kojima se na samom kraju pridružuje populacija K<sub>2</sub>, ukazujući da joj ni jedna od ispitivanih domaćih populacija kukuruza genetički nije slična (grafik 15). Na osnovu podataka o kombinacionoj sposobnosti (tabela 13), može se zaključiti da se izdvaja populacija K<sub>2</sub> (*BSSS* osnove), kao i da se grupišu genotipovi nezavisne i *Lancaster* osnove (K<sub>1</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>, K<sub>9</sub> i K<sub>12</sub>).



Grafik 15. Dendrogram klaster analize domaćih populacija kukuruza na osnovu SSR markera po *Jaccard-u*, (1908)

### 6.8.2.2 Klaster analiza introdukovanih populacija kukuruza

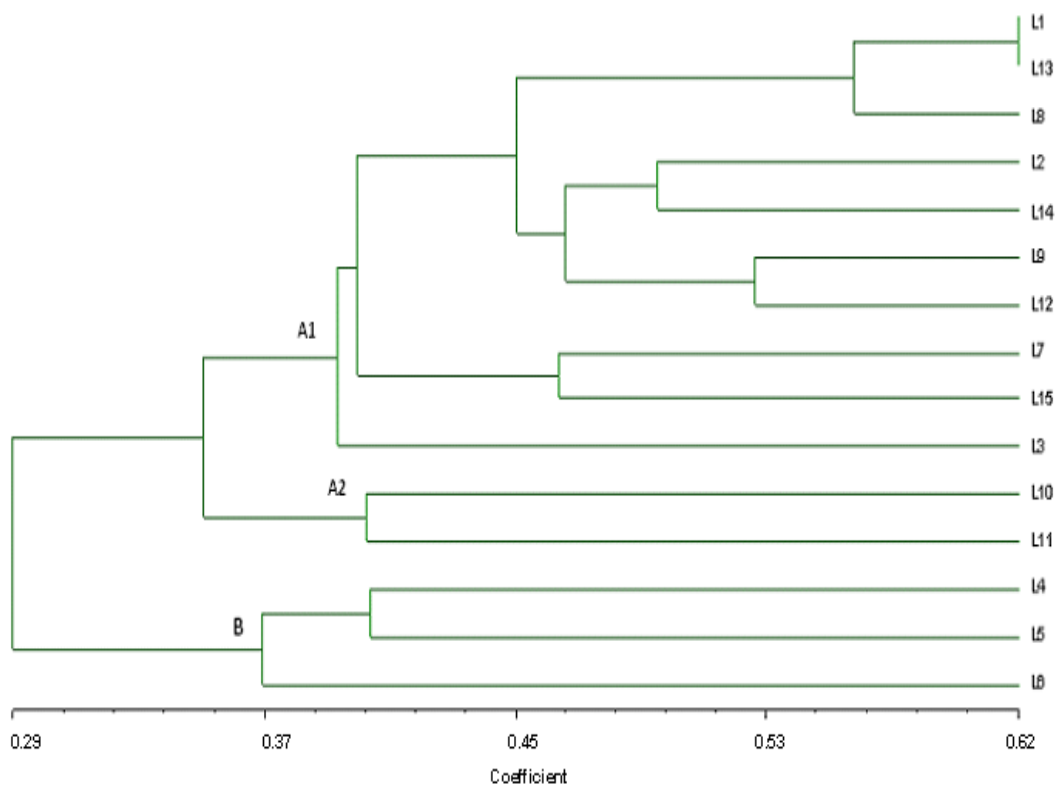
Kod introdukovanih populacija kukuruza, dendrogram je takođe podeljen u dva klastera. Kao međusobno najslabijim, populacijama P<sub>6</sub> i P<sub>12</sub> se pridružuje populacija P<sub>5</sub>, a zatim redom po jedna, populacije P<sub>13</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>11</sub> i P<sub>10</sub>. Tako grupisane, spajaju se sa parom međusobno povezanih populacija P<sub>1</sub> P<sub>2</sub>, čime je formiran klaster A. Klaster B čine povezane populacije P<sub>3</sub> i P<sub>8</sub>, za koje se prvo vezuje populacija P<sub>4</sub>, a naknadno im se pridružuje populacija P<sub>7</sub>, genetički najudaljenija od svih analiziranih introdukovanih populacija, koje su većinom *Lancaster* osnove (grafik 16).



Grafik 16. Dendrogram klaster analize introdukovanih populacija kukuruza na osnovu SSR markera po *Jaccard*-u, (1908)

### 6.8.2.3 Klaster analiza introdukovanih inbred linija kukuruza

Na dendrogramu inbred linija kukuruza se vidi da postoje, uslovno, dva klastera A i B. Klaster A je podeljen na subklaster A1 i A2. U prvom koraku se, kao najslabije, povezuju inbred linije L<sub>1</sub> i L<sub>13</sub>, a zatim i linija L<sub>8</sub>. Dva para međusobno povezanih linija (L<sub>2</sub> L<sub>14</sub> i L<sub>9</sub> L<sub>12</sub>) se zatim spajaju sa prethodno grupisanim linijama, kojima se naknadno pridružuje još jedan par inbred linija (L<sub>7</sub> L<sub>15</sub>) i genetički najmanje slična njima, linija L<sub>3</sub> nepoznatog porekla, čineći tako subklaster A1. Dve međusobno najslabije linije L<sub>10</sub> i L<sub>11</sub>, koje čine subklaster A2, spajaju se sa inbred linijama iz subklastera A1 i na taj način je formiran klaster A. Jasno se izdvaja klaster B, u kome se sa međusobno povezanim linijama L<sub>4</sub> i L<sub>5</sub>, spaja linija L<sub>6</sub>, genetički najudaljenija od svih analiziranih introdukovanih inbred linija (grafik 17).



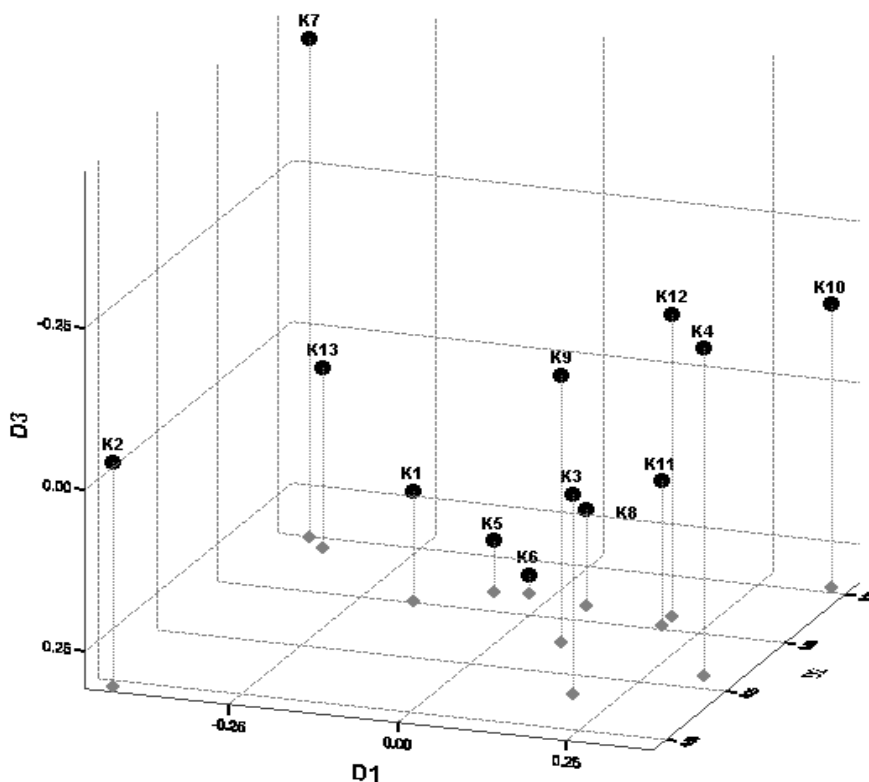
Grafik 17. Dendrogram klaster analize introdukovanih inbred linija kukuruza na osnovu SSR markera po *Jaccard*-u, (1908)

### 6.8.3 Korespondenciona analiza

Radi potpunijeg sagledavanja genetičke sličnosti ispitivanih genotipova *core* kolekcije za tolerantnost na sušu dobijenih SSR molekularnih markerima, urađena je korespondenciona analiza. Rezultati su prikazani na grafikonima u tri dimenzije, u vidu kontinuirane varijabilnosti (grafik 18, 19 i 20).

#### 6.8.3.1 Korespondenciona analiza domaćih populacija kukuruza

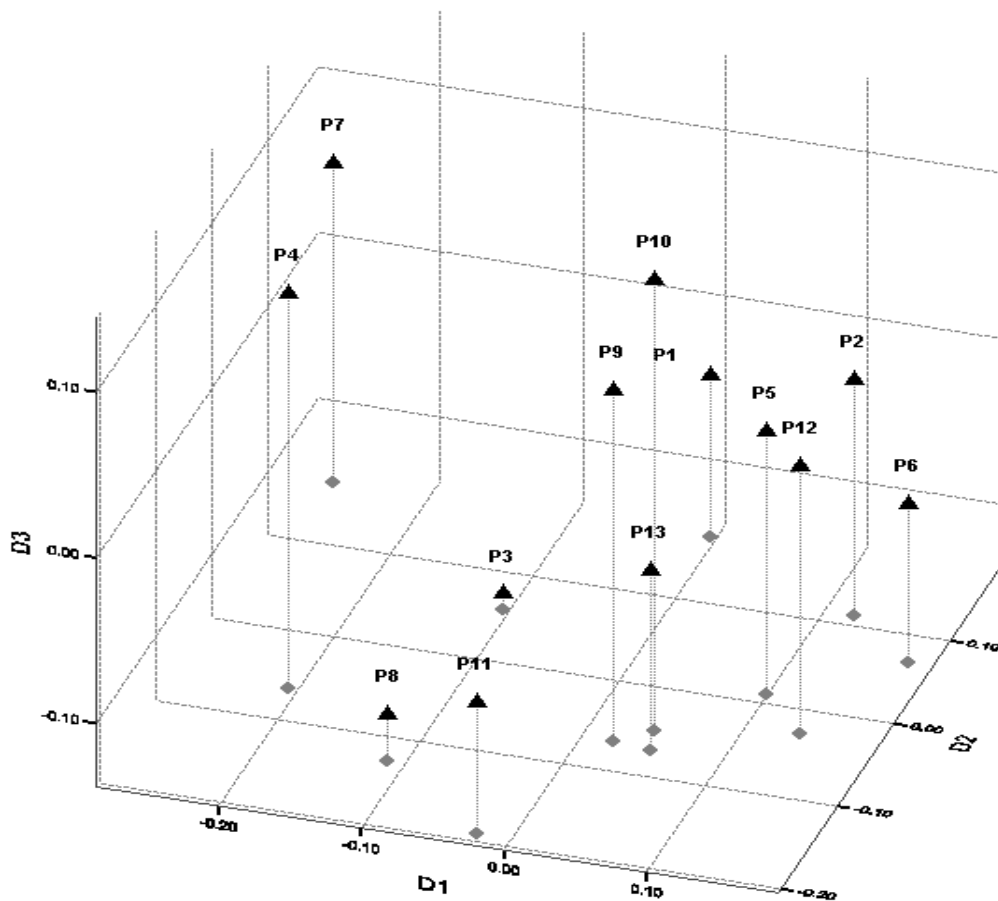
Kod domaćih populacija kukuruza, prve tri dimenzije ( $D1$ ,  $D2$ ,  $D3$ ) korespondencijalne analize genetičkih sličnosti obuhvataju 19,9, 34,4 i 46,4% genetičke varijabilnosti, respektivno. Rezultati su u saglasnosti sa rezultatima klaster analize. Vidi se jasno izdvajanje  $K_2$  i  $K_{10}$  populacija, što ukazuje da su genetički najudaljenije od ostalih domaćih populacija, koje se takođe međusobno dosta razlikuju (grafik 18).



Grafik 18. 3D dijagram korespondencijalne analize genetičkih sličnosti domaćih populacija kukuruza

### 6.8.3.2 Korespondenciona analiza introdukovanih populacija kukuruza

Kod introdukovanih populacija kukuruza, prve tri dimenzije ( $D1$ ,  $D2$ ,  $D3$ ) korespondencijalne analize genetičkih sličnosti obuhvataju 29,1, 49,0 i 59,1% genetičke varijabilnosti, respektivno. Negativne vrednosti prve dimenzije korespondencijalne analize imaju genotipovi iz klastera B ( $P_3$ ,  $P_4$ ,  $P_7$  i  $P_8$ ), kao i genotip  $P_{11}$  iz klastera A, a svi su *Lancaster* i nepoznate osnove. Sa pozitivnim vrednostima prve dimenzije uočavaju se dve grupe genotipova koji u sebi sadrže *Lancaster* osnovu (na osnovu testiranja kombinacione sposobnosti). Prvu grupu čine  $P_9$ ,  $P_{10}$  i  $P_{13}$ , a drugu genotipovi  $P_5$ ,  $P_6$ ,  $P_{12}$  i izdvojeni genotip nepoznatog porekla  $P_2$  (na osnovu testiranja kombinacione sposobnosti; grafik 19).

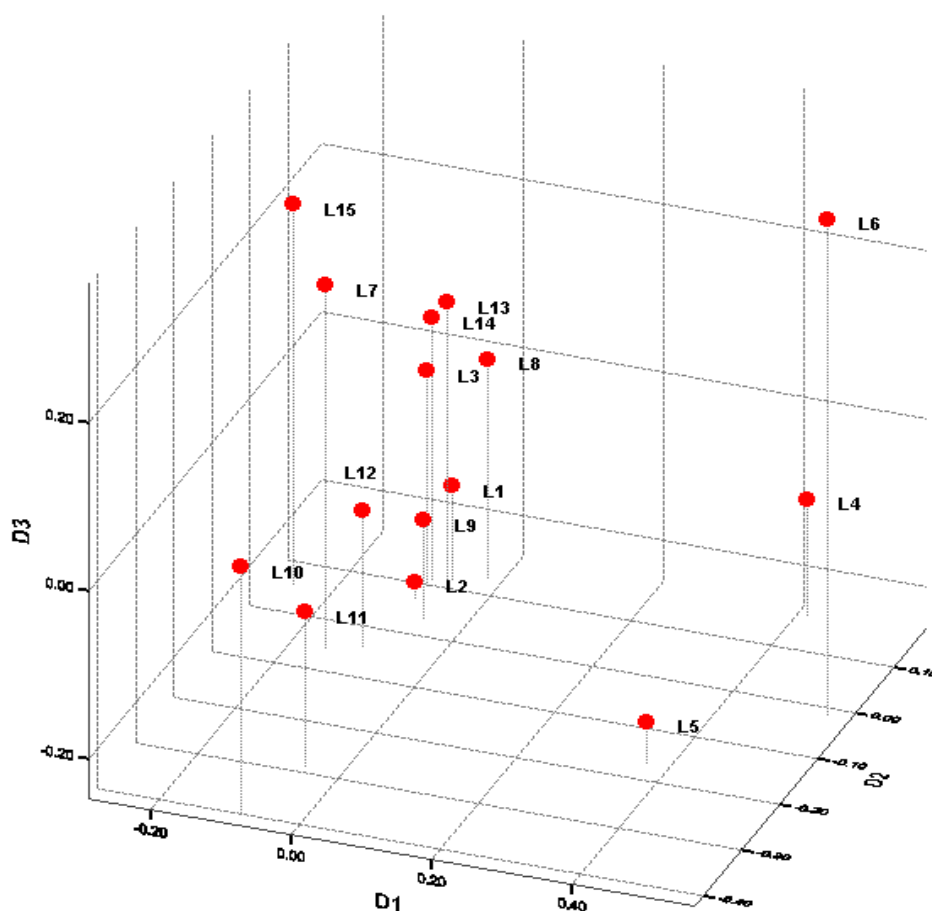


Grafik 19. 3D dijagram korespondencijalne analize genetičkih sličnosti introdukovanih populacija kukuruza



### 6.8.3.3 Korespondenciona analiza introdukovanih inbred linija kukuruza

Kod introdukovanih inbred linija kukuruza, prve tri dimenzije ( $D1$ ,  $D2$ ,  $D3$ ) korespondencijalne analize genetičkih sličnosti obuhvataju 24,0, 37,1 i 49,4% genetičke varijabilnosti, respektivno. Sa pozitivnim vrednostima prve dimenzije jasno se izdvajaju genotipovi *Lancaster* osnove iz klastera B ( $L_4$ ,  $L_5$  i  $L_6$ ). Zajedničko za sve ostale introdukovane inbred linije, iako se među sobom veoma razlikuju, je da sve imaju negativne vrednosti prve dimenzije korespondencijalne analize (grafik 20).



Grafik 20. 3D dijagram korespondencijalne analize genetičkih sličnosti introdukovanih inbred linija kukuruza

## 7. DISKUSIJA

Identifikacija potencijalno korisnih gena za odabir superiornih genotipova u pogledu višeg i stabilnijeg prinosa u nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine, veće otpornosti na uticaj bolesti i štetočina, veće tolerantnosti na uticaj abiotičkog stresa, kao i boljeg nutritivnog sastava zrna, zahteva puno vremena i materijalnog ulaganja (Marshall i sar., 1989). Oplemenjivači se uglavnom koncentrišu na adaptirani i već poboljšani materijal, izbegavajući korišćenje lokalnih populacija, egzotične germplazme, kao i divljih srodnika, dostupnih u bankama gena.

Iz tog razloga je i očigledno da postoji jaz između dostupnih genetičkih resursa u okviru banaka gena i njihove upotrebe u oplemenjivačkim programima. Dok banke gena nastoje da očuvaju što je moguće veću genetičku varijabilnost postojeće germplazme koja je na raspolaganju oplemenjivačima, oni se skoro isključivo oslanjaju na svoje radne kolekcije. Savremeni oplemenjivački programi koriste tek oko 5 % genetičke varijabilnosti, dostupne u bankama gena (Hallauer i Carena, 2009). Masovno korišćenje materijala uske genetičke osnove u komercijalnoj proizvodnji kukuruza, neminovno dovodi do gubitka njegove genetičke varijabilnosti (Vančetović i sar., 2010).

Postojanje i očuvanje genetičke varijabilnosti omogućava bolju adaptaciju biljaka na uticaj različitih biotičkih i abiotičkih faktora, uključujući i delovanje sve izraženijih klimatskih promena. Takođe je veoma bitno i za ostvarivanje heterozisa, zato što se procena genetičke varijabilnosti može koristiti za identifikaciju novih izvora germplazme, koja bi ukrštanjem sa postojećim komercijalnim genotipovima kukuruza, omogućila njihovu popravku i dobijanje novih inbred linija i hibrida višeg i stabilnijeg prinosa u nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine, kao i veće otpornosti i tolerantnosti na uticaj biotičkih i abiotičkih faktora (Xu i sar., 2004).

Danas se germplazma kukuruza, sakupljana decenijama, nalazi u gen bankama širom sveta, i obuhvata lokalne populacije, poboljšane populacije (sintetike i kompozite), linije (rane generacije u procesu stvaranja i čiste homozigotne inbred linije), kao i divlje vrste i srodnike. Smatra se da najveći značaj u očuvanju varijabilnosti imaju upravo lokalne populacije kukuruza, kao genotipovi sa visokim stepenom genetičke varijabilnosti i visokim stepenom adaptiranosti prirodnim i

antropološkim sredinama iz kojih vode poreklo (Brandolini, 1969; Ignjatović-Micić, 2008).

Banka gena Instituta za kukuruz „Zemun Polje“, sa svojom kolekcijom od 2217 domaćih populacija, kao i sa kolekcijom od 3297 introdukovanih genotipova (populacija, sintetika, kompozita i inbred linija) poreklom iz 40 zemalja sveta, sa svih kontinenata, izuzev Australije (ukupno 5806 genotipova), spada među deset najvećih svetskih banaka gena za kukuruz (FAO, 2010).

Kao izvorni biološki materijal, stvoren procesom prirodne selekcije i prilagođen lokalnim uslovima gajenja, domaće populacije se smatraju najznačajnim genotipovima za potrebe savremenog oplemenjivanja kukuruza. Iako su tokom svoje ekspanzije i domestikacije, izgubile deo varijabilnosti uslovljene genetičkim driftom i inbridingom, domaće populacije kukuruza predstavljaju nacionalno blago, i svim aktivnostima u vezi sa upravljanjem, njihovom karakterizacijom i evaluacijom, dat je najviši prioritet u banci gena.

Kako u dužem vremenskom periodu nisu bile podvrgnute selekciji u okviru oplemenjivačkih programa, domaće populacije kukuruza su zadržale ogromnu genetičku varijabilnost, što je doprinelo njihovoj adaptiranosti širokom spektru agroekoloških niša, čineći ih tako važnim genetičkim resursima poželjnih osobina (Anđelković i sar., 2011). Sa svojom rezervom predačkih gena i posedovanjem odgovarajućih poželjnih karakteristika (tolerantnost prema abiotičkom i otpornost prema biotičkom stresu, tolerantnost na herbicide, nizak sadržaj antinutritivnih komponenti, kao i visok sadržaj proteina, ulja i skroba u znu), domaće populacije predstavljaju izvor genetičkog diverziteta i varijabilnosti, koristan za unapređivanje oplemenjivačkih programa kukuruza.

Intenzivno korišćenje genetičke varijabilnosti koja se čuva i održava u bankama gena, identifikacijom poželjnih osobina i / ili gena iz neadaptirane i adaptirane germplazme, izložene uticaju određenog selekcionog pritiska, omogućeno je aktivnostima u okviru *pre-breeding*-a (Nass i Paterniani, 2000). Rezultati njegovog uspešnog sprovođenja ogledaju se u stvaranju manjih jezgrovnih kolekcija za određene osobine od značaja za programe oplemenjivanja kukuruza.

Zbog sve prisutnijih promena klime i trenda globalnog otopljanja, poboljšana sposobnost kukuruza da izdrži periode suše je esencijalna, zbog čega je neophodno

multidisciplinarno proučavanje osobina koje doprinose njegovoj povećanoj tolerantnosti prema stresu suše.

Vodni deficit i visoke temperature vazduha se smatraju glavnim faktorima spoljašnje sredine, čiji se negativan uticaj ogleda u ograničavanju rasta i smanjenju prinosa useva kukuruza, uslovljenih morfo-fiziološkim, biohemijskim i molekularnim promena na nivou ćelije i cele biljke, time direktno utičući na visinu i kvalitet prinosa (Chaves i sar., 2002).

Štetan efekat ovih abiotičkih faktora, uglavnom je proučavan odvojeno. Međutim, u poljskim uslovima, oni se uglavnom javljaju u kombinaciji; istovremena pojava vodnog deficita i visoke temperature dovodi do povećanja štetnog efekta, i po intenzitetu, značajnog prevazilaženja njihovog pojedinačnog delovanja (*cross-synergism*; Rizhyski i sar., 2004; Challinor i sar., 2005). Slično tome, biljka može biti u stanju da prevaziđe izloženost štetnom uticaju pojedinačnog stresa, povećavajući svoju tolerantnost putem adaptacije (*cross-adaptation*; Savin i Nikolas, 1996; Challinor i sar., 2007).

U pogledu rasta, razvoja, akumulacije biomase i prinosa, poboljšane performanse useva u uslovima stresa se ogledaju u sposobnosti prevazilaženja, aklimatizacije i oporavka od štetnog efekta abiotičkih faktora vodnog deficita i visoke temperature, integrisanim uključivanjem kompleksa fizioloških i biohemijskih procesa (Prasad i sar., 2004).

Zbog izrazite povezanosti vodnog statusa biljke i temperature, metabolički odgovor biljke na istovremeni uticaj vodnog deficita i visoke temperature, u poljskim uslovima, je jedinstven i specifičan, i ne može se dobiti direktnom ekstrapolacijom iz odgovora biljke na pojedinačni uticaj stresa (Mittler, 2006).

Kada se uzme u obzir scenario budućih klimatskih promena, koji se ogleda u sezonskim promenama temperature i učestalim pojavama suše i drugih meteoroloških ekstrema, ovi aspekti dobijaju još više na značaju (Prasad i sar., 2002). Ovome ide u prilog i podatak, da je za poslednjih 12 godina na teritoriji Republike Srbije, šest bilo sušnih: 2000. kao izrazito sušna i 2003. kada je suša registrovana i u proleće i u leto; u 2007. je zabeležen vodni deficit u kombinaciji sa ekstremno visokim temperaturama (i do 45°C, čime su prevaziđeni neki dotadašnji maksimumi); a 2009. prolećna suša slabijeg intenziteta; 2011. suša je bila aktuelna tokom celog vegetacionog perioda,

naročito u avgustu i septembru, a produžena je i na oktobar i novembar. U 2012. god, količina padavina u periodu jun-avgust je bila znatno ispod proseka, tako da je najveći deo zasejanih površina dobio svega 25% do 50% od prosečne količine padavina, što predstavlja sušu jakog intenziteta, koja je imala uticaja ne samo na poljoprivrednu proizvodnju, već i na vodostaj reka, kao i na smanjenje količine podzemnih voda (<http://www.hidmet.gov.rs/>).

Cilj savremenog oplemenjivanja kukuruza u umerenom klimatskom području, ogleda se u stvaranju hibrida stabilnog prinosa, kako u uslovima optimalne snabdevenosti vodom, tako i u uslovima vodnog deficita. Poboljšanje tolerantnosti kukuruza prema stresu suše, kao sastavnog dela mnogih oplemenjivačkih programa, zahteva posedovanje odgovarajuće germplazme, odabir lokaliteta na kojima će nivo stresa suše biti precizno kontrolisan, kao i praćenje osobina relevantnih za stres suše (Beck i sar., 1996; Bänziger i sar., 2000).

Sredine u kojima se “upravlja” nivoom stresa (MSE - *managed stress environments*) su lokaliteti koji se karakterišu minimalnim ili potpunim odsustvom padavina tokom vegetacionog perioda, primenom preciznog navodnjavanja u određenoj fazi razvića (čime se omogućava ispitivanje germplazme u uslovima jakog stresa izazvanog sušom, do uslova dobre snabdevenosti vodom), vrlo malim interakcijama sa biotičkim faktorima, kao i visokim potencijalom za prinos u uslovima navodnjavanja (Bruce i sar., 2002; Barker, i sar., 2005). Kontrolisanjem najvažnijih faktora spoljašnje sredine, sa ciljem ekspresije genetičkih varijacija pri određenom stresu, istovremeno se vrši i identifikacija genetičke povezanosti tolerantnosti prema suši i tzv. sekundarnih osobina od značaja za oplemenjivanje (Bänziger i sar., 2000).

U cilju identifikacije i odabiranja genotipova sa povećanom tolerantnošću prema suši, celokupni genofond banke gena Instituta za kukuruz “Zemun Polje” (ukupno 5806 domaćih i introdukovanih genotipova) podvrgnut je uslovima kontrolisane suše u Egiptu, kao i uslovima umerenog vodnog deficita u Zemun Polju i Skoplju.

Jedna od preporučenih strategija u procesu selekcije genotipova na stresne faktore je strategija koja polazi od toga da se superiorni genotipovi testiraju u posebnim, sušnim sredinama, uz primenu odgovarajućeg selekcionog pritiska (Arboleda-Rivera i Compton, 1974). Za testiranje svih genotipova iz banke gena, odabran je lokalitet poljoprivredne stanice Sids (dolina reke Nil, 150km južno od Kaira), za koji je

karakteristično odsustvo padavina u toku vegetacionog perioda, u kombinaciji sa visokim temperaturama vazduha, čime je omogućena potpuna kontrola vodnog režima navodnjavanjem.

Testiranje je bilo zasnovano na grupisanju genotipova po dužini vegetacionog perioda (po grupama zrenja), na osnovu poznatih podataka o broju dana između nicanja i svilanja za svaki genotip, koje je bilo neophodno, kako bi svi bili izloženi stresu suše u približno istoj fazi vegetacionog perioda. Tako grupisan materijal (ekstra rani - 227, rani - 1348, srednje stasni - 2684, srednje-kasni - 128 i kasni - 267 genotipova) se sejao u odvojenim parcelama, a navodnjavanje je vršeno do pojave prve metlice u svakoj grupi, tj. do dve nedelje pred cvetanje najranijeg genotipa u okviru svake grupe.

Tri nedelje pre berbe, svi genotipovi su bili ocenjeni vizuelnim praćenjem preporučenih sekundarnih osobina relevantnih za stres suše (Bänziger i sar., 2000; Monneveux i sar., 2008), koji su uključivali broj dana između metličanja i svilanja (ASI - *anthesis silking interval*), osobinu *stay green*-a (merenu na skali 1 - 5, gde je 5 bila ocena za najbolji *stay green*, tj. 90-100% listova zelene boje; Wanous i sar., 1991), kao i ukupan izgled genotipa (merenog na skali 1 - 8, gde je 8 bila ocena za najbolji ukupan izgled genotipa, koji je obuhvatao broj biljaka, broj jalovih biljaka, broj klipova, broj kočanki bez zrna, ozrnjenost klipa i nalivenost zrna). Na osnovu rezultata ovog dela eksperimenta, izdvojen je 571 genotip kukuruza, kao potencijalni izvor tolerantnosti na sušu, što je predstavljalo 9,8% ispitivane germplazme.

Odabrani genotipovi (571) su naredne godine testirani na tri lokacije: u uslovima ekstremne suše (isti lokalitet i vodni režim u Egiptu), kao i u uslovima umerenog klimata (Zemun Polje i Skoplje), u cilju konačnog odabira genotipova tolerantnih na sušu i adaptiranih na lokalne uslove.

Ponovljena je ista eksperimentalna procedura iz prethodne godine, koja je podrazumevala grupisanje genotipova po dužini vegetacionog perioda (po grupama zrenja). Tako grupisan materijal (ekstra rani - 60, rani - 159, srednje stasni - 171, srednje-kasni - 141 i kasni - 40 genotipova) se sejao u odvojenim parcelama i potom uobičajeno negovao i navodnjavao do dve nedelje pred cvetanje, kada je navodnjavanje prekinuto i nije primenjeno do kraja vegetacionog perioda.

Ocena genotipova je vršena u berbi, a kao pokazatelji tolerantnosti, zapažane su sledeće sekundarne osobine relevantne za stres suše: ASI, osobina *stay green*-a, jalovost

biljke, ozrtnost klipa i nalivenost zrna. Pored ocene genotipova na osnovu vizuelnog praćenja sekundarnih osobina relevantnih za stres suše (na sva tri lokaliteta), u uslovima umerenog vodnog deficita (Zemun Polje i Skoplje) je izvršena i ocena genotipova na osnovu merljivih parametara koje čine komponente prinosa (težina klipa, težina oklaska i težina zrna).

Kao rezultat dvogodišnjeg testiranja celokupne germplazme banke gena, na osnovu prosečnih vrednosti zapažanih sekundarnih osobina u uslovima kontrolisanog stresa suše u Egiptu, kao i u uslovima umerenog vodnog deficita na lokalitetima Zemun Polje i Skoplje, odabran je 51 genotip kao najtolerantniji na stres suše, istovremeno adaptiran na lokalne uslove - 20 domaćih populacija, 14 introdukovanih populacija i 17 introdukovanih inbred linija kukuruza.

Adekvatna karakterizacija, kao i opsežna testiranja opšte i specifične kombinacione sposobnosti, omogućavaju grupisanje genotipova u odgovarajuće heterotične grupe, koje predstavljaju odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju dobijanja hibrida što boljih performansi, nastalih iz različitih ukrštanja populacija (Reif i sar., 2005; Tracy i Chandler, 2006).

Informacije o opštoj i specifičnoj kombinacionoj sposobnosti germplazme kukuruza omogućavaju identifikaciju prirode delovanja gena uključenih u ekspresiju kvantitativnih osobina (kao što je tolerantnost prema stresu suše, prinos i komponente prinosa), evaluaciju genetičke raznovrsnosti, određivanje i klasifikaciju heterotičnog modela (*heterotic pattern*), adekvatan izbor roditeljskih komponenti, procenu heterozisa za prinos i komponente prinosa, u cilju stvaranja hibrida što boljih performansi (Barata i Carena, 2006; Fan i sar., 2008; Bidhendi i sar., 2012).

Većinu evropskih varijeteta gajenog kukuruza predstavljaju ukrštanja germplazme evropskih tvrdunaca i germplazme zubana SAD-a, objedinjujući u sebi osobinu ranog porasta i sazrevanja (kao odlike genotipova iz grupe tvrdunaca), sa visokom prinosnošću (kao odlike genotipova iz grupe zubana SAD-a). S obzirom da se većina komercijalnih inbred linija tvrdunaca dovodi u vezu sa elitnim evropskim inbred linijama - EP1, F2 i F7, bilo bi veoma korisno pronaći druge pogodne izvore inbred linija tvrdunaca, čime bi se proširila genetička osnova evropskih hibrida (Soengas i sar., 2003).

Vršeni su brojni pokušaji u vezi sa pronalazaženjem novih kombinacija ukrštanja evropskog i američkog materijala. U ovim istraživanjima je uočeno ispoljavanje visokog heterozisa za prinos u ukrštanjima evropskih i SAD zubana (Misevic, 1990; Ordás, 1991; Radovic i Jelovac, 1995; Sinobas i Monteagudo, 1996).

Kako je prinos kukuruza glavni kriterijum za uspostavljanje novih heterotičnih modela i stvaranje i plasiranje konkurentnih hibrida na tržište, kod mnogih autora se navodi da je kod inbred linija kukuruza, kao komponenti hibrida, važnija informacija o specifičnoj kombinacionoj sposobnosti, dok je kod linija kukuruza u procesu selekcije, kao potencijalnih budućih komponenti hibrida, važnija informacija o opštoj kombinacionoj sposobnosti (Zambezi i sar., 1994; Eyhérabide i Gonzáles, 1997; Castellanos i sar., 1998).

U ovom delu eksperimenta, testirana je pripadnost odabranog 51 genotipa određenim heterotičnim grupama, na osnovu ukrštanja sa tri različita elitna inbred testera, poreklom iz 3 heterotične grupe - *BSSS*, *Lancaster* i nezavisne). Kriterijum za odabir ukrštanja je bio prinos, koji se nije statistički značajno razlikovao od prinosa korišćenog standarda (hibrida ZP 341, kao najrodnijeg i najtolerantnijeg na sušu) i žetveni indeks, zasnovan na prinosu i vlazi zrna u berbi, koji je bio preko 100% u odnosu na standard (Anđelković i sar., 2010).

Relativne performanse ukrštanja sa grupom divergentnih testera mogu se koristiti za procenu genetičkih distanci. Hallauer i Miranda, (1988) navode da heterotični modeli između genotipova mogu biti zasnovani na bazi evaluacije ukrštanja. Ako su interakcije genotipova sa testerima značajne, genotipovi se mogu klasifikovati u različite heterotične grupe na osnovu svog udela u ukrštanjima sa testerima.

Istovremeno sa testiranjem pripadnosti odgovarajućim heterotičnim grupama, izvršeno je i dvogodišnje ispitivanje opšte kombinacione sposobnosti ukrštanja genotipova kukuruza sa odabranim elitnim inbred testerima, na lokalitetima Zemun Polje i Skoplje. Na osnovu dobijenih rezultata, finalno je odabran 41 genotip - 13 domaćih populacija, 13 introdukovanih populacija i 15 introdukovanih inbred linija kukuruza i time formirana *core* kolekcija kukuruza za tolerantnost prema suši.

Genotipovi se obično dobro kombinuju u ukrštanjima sa linijama iz samo jedne od suprotnih heterotičnih grupa (Melchinger, 1999). Međutim, u ovom delu istraživanja, od izuzetnog značaja je bilo izdvajanje 6 genotipova kukuruza, koji su se dobro



kombinovali sa sva tri korišćena heterotična izvora, čineći tako potencijalno nov, sasvim različit izvor poželjne germplazme (Anđelković i sar., 2010).

Za potrebe savremene selekcije kukuruza i stvaranje useva koji će pokazati bolju produktivnost i stabilnost u uslovima suše, od velikog značaja je razumevanje i integrisano razmatranje brojnih fizioloških i biohemijskih procesa koji se odvijaju na svim nivoima organizacije, pogotovo na nivou cele biljke (Campos i sar., 2004).

Efekat suše, posmatran na nivou cele biljke kukuruza je višestruk, i ogleda se u smanjenoj sposobnosti klijanja i nicanja semena, slabijem razvoju korena i nadzemnog dela biljke, smanjenoj sposobnosti stvaranja i nakupljanja suve materije, kao i negativnom uticaju na formiranje cvetova, stvaranje polena, oprašivanje, formiranje, brojnost i kvalitet zrna (Chaves i sar., 2003).

Fizička razdvojenost cvetova, zahteva sinhronizaciju u pojavi i razvoju cvetova kod kukuruza, u cilju uspešnog oprašivanja i formiranja zrna. Kukuruz je posebno osetljiv na vodni deficit nedelju dana pre i dve nedelje posle cvetanja (Vega i sar., 2001), što može rezultirati kašnjenjem u formiranju i razvoju cvetova, ali i izostankom stvaranja cvetova (Borras i sar., 2007). Usporena pojava svile rezultuje produžavanjem intervala između metličanja i svilanja (duži ASI - *anthesis silking interval*; Westgate i sar., 2004; Monneveux i sar., 2006), što u uslovima suše dovodi do jalovosti biljke ili slabe ozrjenosti klipa. Kod kukuruza se pokazalo, da je prinos zrna u uslovima suše u fazi cvetanja, u statistički visoko značajnoj korelaciji sa ASI-jem ( $r = -0,50^{**}$ ; Bolaños i Edmeades, 1996; Araus i sar., 2012).

U programima oplemenjivanja kukuruza na stabilan prinos u različitim ekološkim i klimatskim uslovima, posebnu pažnju treba posvetiti zadržavanju odgovarajuće grupe zrenja, tj. dužini vegetacionog perioda, kao osobini visokog stepena naslednosti. U optimalnim uslovima, ako se intenzitet stresa suše poveća tokom vremena, genotipovi kukuruza koji cvetaju ranije bivaju izloženi stresu suše slabijeg intenziteta od onih koji kasnije cvetaju, a selekcija zasnovana samo na prinosu, favorizovaće genotipove koji su raniji u odnosu na prosek populacije. Zato se posebna pažnja mora posvetiti zadržavanju konstantnog datuma cvetanja, ako je cilj selekcije ostvarivanje tolerantnosti prema suši, a ne njeno izbegavanje (što se dešava kod genotipova ranih grupa zrenja; Edmeades i sar., 1995).

Iako je prilikom uporednog ispitivanja različitih ciklusa rekurentne selekcije (C<sub>0</sub>-C<sub>3</sub>) CIMMYT-ovih populacija kukuruza, koje u sebi sadrže tolerantnost prema suši (La Posta Sequia - tropski kasni material po dužini vegetacionog perioda i Pool 26 Sequia - srednje-kasni do kasni material po dužini vegetacionog perioda), došlo do smanjenja ASI-a, kod obe populacije ASI je bio veći u sušnim uslovima (3,4, odnosno 2,8), nego u uslovima navodnjavanja (0,7, odnosno 0,9; Edmeades, 1994).

U ovom istraživanju je, međutim, kod svih genotipova kukuruza broj dana između metličanja i svilanja (ASI) bio najmanji u Egiptu (u uslovima izraženog vodnog deficita), a najveći u Skoplju (u uslovima umerenog vodnog deficita), i kretao se u intervalu od 1,31 dana do 2,69 dana, što ukazuje na prisustvo tolerantnosti prema stresu kod ovih genotipova kukuruza.

Deficit vlage u vreme cvetanja, izaziva najveće smanjenje prinosa kod kukuruza, poklapajući se sa početkom mejoze i razvojem zrna (Westgate i Grant, 1989; Saini, 1997). Tokom mejoze, vodni deficit inhibira razvoj unutrašnjeg zida polenovog zrna i može dovesti do njegove sterilnosti, kao posledice poremećaja u metabolizmu ugljenih hidrata i smanjene rezervne količine skroba, prvenstveno izraženom inhibicijom aktivnosti enzima kisele invertaze koja katalizuje razlaganje saharoze do heksoza, kao početnog neophodnog koraka u sintezi skroba (Zinselmeier i sar., 1999).

Kod kukuruza, porast svile u vreme cvetanja je pokazatelj brzine porasta i klipa i cele biljke (Borras i sar., 2007). Nedostatak skroba, kao posledice vodnog deficita u zemljištu, takođe inhibitorno utiče na razvoj svile i na rast polenove cevi, sprečavajući je da dospe do jajne ćelije, i time onemogućavajući prodiranje polena do papilarnih ćelija žiga tučka (Barnabas i sar., 2008).

Usled smanjene vitalnosti i sposobnosti klijanja polenovog zrna u uslovima stresa suše (Prasad i sar., 2008), navodi se da pojava vodnog deficita u vreme cvetanja, dovodi do prosečnog smanjenja broja zrna kod kukuruza, i to do 20% (Cakir, 2004). U uslovima izrazite suše koja indukuje pojavu jalovosti, ASI je u statistički visoko značajnoj korelaciji sa brojem klipova po biljci ( $r = -0,5$  do  $-0,7$ ), pa se njegovim merenjem u fazi cvetanja, može predvideti značajan udeo variranja prinosa zrna, poznatog tek za 2-3 meseca (Araus i sar., 2012).

Jalovost biljke je imala isti trend kao i izmereni ASI. Kod svih genotipova, prosečna vrednost za jalovost biljke je bila najniža u Egiptu, a najviša u Zemun Polju, i

kretala se u intervalu od svega 4,41% kod introdukovanih populacija do 13,16% kod domaćih populacija kukuruza. Dobijeni rezultati su u potpunoj saglasnosti sa rezultatima istraživanja Camposa i sar. (2004), u kojima se navodi, da je poboljšana tolerantnost na stres suše u fazi cvetanja, praćena značajnim smanjenjem u broju dana između metličanja i svilanja (ASI), kao i redukcijom jalovosti.

Iako je potrebno da se, pre početka cvetanja, akumulira izvesna količina biomase klipa, u uslovima vodnog deficita u fazi svilanja, razvoj stabla, komušine, metlice i korena su u velikoj meri favorizovani u odnosu na akumulaciju biomase klipa. To je prvenstveno posledica slabe sposobnosti klipa za korišćenjem ionako niskih rezervi asimilata iz stabla usled smanjene fotosintetičke aktivnosti izazvane sušom (Zinselmeier i sar., 1995; Edmeades i sar., 2000a). U uslovima vodnog deficita, smanjeni protok asimilata do klipa ili intenzivni razvoj stabla i metlice, dovode do značajnog smanjenja ozrjenosti klipa i neujednačene raspoređenosti zrna (*scattered*) po klipu (sa oko 30-50 zrna po klipu; Edmeades i sar., 2000b).

Ispitivanjem povezanosti sekundarnih osobina sa prinosom u uslovima stresa suše u fazi cvetanja kod tropske germplazme kukuruza, uočen je statistički visoko značajan koeficijent korelacije između prinosa i broja zrna / klipu (i do  $r = 0,9$ ), kao i srednje do visoko značajan koeficijent korelacije između prinosa i broja zrna po klipu sa ASI-jem ( $r = -0,4$  do  $-0,7$ ; Bolaños i Edmeades, 1996; Araus i sar., 2012).

Rezultati ove doktorske disertacije su u saglasnosti sa rezultatima navedenih istraživanja. Dok su vrednosti za ASI kod svih genotipova bile najmanje u Egiptu, a najveće u Skoplju, ozrjenost klipa je imala obrnuti trend i kretala se u intervalu od 78,67% kod introdukovanih inbred linija do 93,08% kod introdukovanih populacija kukuruza.

Nalivanje zrna je definisano kao vremenski interval od formiranja zrna do dostizanja pune fiziološke zrelosti (Brevedan i Egli, 2003.). Dužina trajanja nalivanja zrna, kao završne faze reproduktivnog razvića kukuruza, određuje konačnu težinu zrna, kao ključnu komponentu prinosa. Prasad i sar. (2008), navode da pojava suše nakon cvetanja (tzv. terminalna suša) ima malog uticaja na intenzitet, ali skraćuje vreme trajanja nalivanja zrna, dovodeći do stvaranja zrna male veličine, a time i manjeg prinosa. Smanjena lisna površina i fotosintetička aktivnost, usled prisustva vodnog

deficita, dovode do smanjenja zaliha ugljenih hidrata i rezervi azota potrebnih za razvoj zrna, što za posledicu ima dalje smanjenje veličine zrna.

U ranim fazama nalivanja zrna, aktivnost ćelija endosperma određuje maksimalnu količinu skroba i proteina koje će se akumulirati u svakom zrnju (Borras i sar., 2003). Pojava suše tokom faze nalivanja zrna, može da dovede do velikog smanjenja prinosa smanjenjem akumulacije skroba (kao rezultat ograničene količine asimilata za potrebe razvoja zrna; Blum, 1998), ili putem direktnih efekata na procese rasta zrna (Yang i sar., 2004).

Nalivanje zrna je usko povezano sa starenjem i korišćenjem akumuliranih rezervnih materija iz stabla (Barnabas i sar., 2008). Kod kukuruza, kompleksi enzima učestvuju u sintezi skroba (Morell i sar., 2001), od kojih su najvažniji saharozna sintaza, adenzin 5'-difosfat pirofosforilaza (AGPaza), rastvorljiva skrobna sintaza, kao i A i B grupe skrobnih enzima (SBE A, SBE B). Očuvana aktivnost ovih enzima rezultuje povećanim potencijalom zrna za usvajanje i korišćenje sintetisanih rezervnih materija, što na kraju dovodi do povećanja intenziteta nalivanja zrna u uslovima suše (Barnabas i sar., 2008). Međutim, u zavisnosti od intenziteta suše, dolazi do promene u enzimskoj aktivnosti; kod izražene dehidracije, prestanak rasta zrna se pripisuje smanjenoj aktivnosti AGPaze, dok je pod uticajem umerenog vodnog deficita, za smanjen rast zrna odgovorna smanjena aktivnost rastvorljive skrobne sintaze (Ahmadi i Baker, 2001).

U ovom istraživanju, prosečna vrednost za nalivenost zrna se kretala u intervalu od 81,00% kod introdukovanih inbred linija u Skoplju do 95,38% kod introdukovanih populacija kukuruza u Egiptu, što ukazuje na njihovu povećanu sposobnost usvajanja i korišćenja asimilata iz vegetativnih delova biljke (stabla i komušine), i u skladu je sa rezultatima Barnabasa i sar., 2008.

Progresivno starenje lista se obično povezuje sa karakterističnom pojavom žutila tkiva lista, ukazujući na gubitak hlorofila u pigment-proteinskom kompleksu fotosintetičkog aparata (Thomas i Howarth, 2000; Borrell et al, 2001). Održanje funkcionalnim zelenog nadzemnog dela, kao i sposobnost remobilizacije ugljenih hidrata iz stabla i komušine u uslovima terminalne suše kod kukuruza, označava se kao *stay-green* osobina (Tollenaar i Dainard, 1978; Crafts-Bander i sar., 1984; Gentinetta i sar., 1986; Rajcan i Tollenaar, 1999).

Thomas i Howarth (2000), upućuju na četiri tipa *stay-green*-a. Kod A tipa, starenje je inicirano kasnije nego što je uobičajeno, ali se nastavlja normalnim intenzitetom. Kod tipa B, starenje otpočinje u uobičajenom periodu, ali napreduje veoma sporo. Tip C zadržava zelenu površinu listova gotovo neograničeno, međutim, tokom vremena, aktivnost fotosinteze opada, a hlorofil, iako prisutan, ne vrši nikakvu funkciju. D tip *stay-green*-a se postiže veštačkim održavanjem zelene boje listova (npr. sušenjem ili zamrzavanjem).

Kod kukuruza, *stay-green*, kao kompleksna genetička i fiziološka osobina, (po načinu ispoljavanja i funkciji koju vrši), se može svrstati u C tip. U uslovima stresa suše, genotipovi kukuruza koji imaju izraženiju osobinu *stay-green*-a, odlikuju se povećanom otpornošću na poleganje i truljenje stabla, višim nivoom akumulacije ugljenih hidrata u stablu tokom i posle nalivanja zrna, kao i boljom nalivenošću zrna u uslovima stresa suše (Lee i Tollenaar, 2007).

Genotipovi sa izraženom osobinom *stay-green*-a izgleda da poseduju veću količinu azota u listu tokom cvetanja i u stanju su da održe zelenom površinu listova i tokom faze nalivanja zrna (Borrell i Hamer, 2000). Visok sadržaj azota u listu kukuruza u fazi cvetanja znači bolju efikasnost fotosinteze, i u visokoj je pozitivnoj korelaciji sa prinosom (Xu i sar., 2000). Na nivou cele biljke, osobina *stay-green*-a se može posmatrati kao rezultat održanja ravnoteže između sposobnosti usvajanja dostupnog azota iz zemljišta, njegovog efikasnog korišćenja (za koje su najodgovorniji glutamin sintetaza i hormoni regulatori rasta), kao i sposobnosti njegove remobilizacije iz vegetativnog tkiva biljke tokom faze nalivanja zrna (Hirel i sar., 2007; Gallais i Hirel, 2004; Blum, 2006). Rajcan i Tollenaar (1999a,b) navode da, tokom faze nalivanja zrna, genotipovi kukuruza sa izraženom osobinom *stay-green*-a usvajaju za oko 20% azota više iz zemljišta u odnosu na genotipove bez ovog svojstva, što znači da poseduju veću dostupnu količinu azota u tkivu za potrebe održavanja procesa fotosinteze, i time direktno doprinoseći višem prinosu.

Na osnovu brojnih istraživanja, utvrđeno je da se prava osobina *stay-green*-a ispoljava u uslovima izraženog stresa suše (Prasad i sar., 2008), što je u potpunoj saglasnosti sa rezultatima dobijenim u ovom istraživanju. Prosečna vrednost *stay green*-a (merenog na skali od 1 do 5; gde je 5 najbolji *stay-green*; tj. 90-100% listova zelene boje) se kretala u intervalu 1,19 do 2,8. Svi ispitivani genotipovi kukuruza su pokazali

isti trend ispoljavanja ove osobine: najizraženiji je bio u Egiptu, gde je i stres suše bio najizraženiji, dok je najslabije bio izražen u Zemun Polju.

Prinos zrna, kao rezultat brojnih procesa koji se odvijaju tokom životnog ciklusa biljke, predstavlja funkciju odnosa između dostupne količine asimilata za potrebe zrna i sposobnosti zrna za njihovim korišćenjem (Cairns i sar., 2012). Kod kukuruza je utvrđeno, da je prinos zrna u uslovima suše u fazi cvetanja, u statistički visoko značajnoj korelaciji sa prinosom zrna / biljci ( $r = 0,90^{**}$ ; Bolaños i Edmeades, 1996; Araus i sar., 2012).

Osobine, kao što su broj zrna / biljci, broj klipova / biljci i ASI, predstavljaju indikatore reproduktivnog uspeha, obično objašnjavajući mnogo više variranje u prinosu od osobina - indikatora vodnog statusa biljke i njenog efikasnog korišćenja, u koje spadaju stopa održavanja lisne površine, temperatura nadzemnog dela biljke, koncentracija hlorofila u listu, uspravan položaj, uvijenost i starenje lista (Bolanos i sar., 1996). Naime, povećano učešće biomase u razvoju klipa u uslovima izrazitog stresa suše, više doprinosi poboljšanju tolerantnosti na stres od promene u vodnom statusu biljke. Objašnjenje za izostanak direktne selekcije na osobine u vezi sa vodnim statusom biljke, se odnosi na nedostatak uzročne povezanosti ovih osobina i prinosa zrna, kao i niske heritabilnosti ili ograničene genetičke varijabilnosti same osobine tolerantnosti prema stresu suše (Blum, 1988).

Rezultati ovih istraživanja pokazuju da je ostvareni prosečan prinos zrna / biljci kod svih genotipova kukuruza, zbog manjeg vodnog deficita, bio veći u Zemun Polju u odnosu na Skoplje, a kretao se u intervalu od 60,31g / biljci kod introdukovanih inbred linija u Skoplju do 105,28g / biljci kod introdukovanih populacija u Zemun Polju.

Najbolji način stabilizacije prinosa zrna pri različitim vodnim režimima, je selekcija na smanjenje broja dana između metličenja i svilanja u uslovima kontrolisanog stresa suše u fazi cvetanja, a zatim obezbeđivanje što boljeg nalivanja zrna novoformiranog klipa. Po formiranju klipa, zadržavanje zelenog funkcionalnog dela biljke, kao i kapaciteta za remobilizaciju ugljenih hidrata iz stabla i komušine, može doprineti visokom prinosu kukuruza u uslovima stresa suše (Rajcan i Tollenaar, 1999).

Osim srednje do visoko značajnih koeficijenata korelacija između prinosa i broja zrna / klipu sa ASI-jem ( $r = -0,4$  do  $-0,7$ ), za ostale sekundarne osobine utvrđene su slabe korelacione veze sa prinosom (između *stay green* osobine i prinosa u uslovima

suše  $r = 0,3$  do  $0,5$ , kao i između *stay green* osobine i težine zrna / klipu  $r = 0,2$  do  $0,3$ ; Bolaños i Edmeades, 1996; Araus i sar., 2012). Jedno od objašnjenja je da broj dana između metličanja i svilanja maskira mogući doprinos ostalih sekundarnih osobina povećanju prinosa zrna, ukazujući da će njihov značaj biti mali sve dok se ASI smanjuje i time doprinosi stabilizaciji prinosa u uslovima stresa (Bolaños i Edmeades, 1996).

U uslovima stresa suše, poboljšana sposobnost korenovog sistema da usvaja vodu iz dubljih slojeva zemljišta, u cilju prevazilaženja nedostatka potrebne količine fotoasimilata, je neopodna za rast i razviće biljke (Xiong i sar., 2006). Identifikacija i razumevanje mehanizama tolerantnosti na sušu kod kukuruza je od primarnog značaja za biljne fiziologe, a odnosi se na razvijenost korenovog sistema, sposobnost zadržavanja otvorenosti stoma pri niskom vodnom potencijalu u listu, na visoku sposobnost osmotskog prilagođavanja, kao i na osobine samih klijanaca (Rajendran i sar., 2011). Iako negativno deluje na sve nivoe organizacije i razvoja biljke, štetan efekat vodnog deficita u zemljištu je najuočljiviji u fazi klijanaca, zbog direktnog uticaja na smanjenje dužine korena i nadzemnog dela (Rauf, 2008; Khayatnezhad i sar., 2010).

Brojna istraživanja su vršena na raznim biljnim vrstama, i upućuju na značaj osmotske stabilnosti membranskog sistema u listu, kao i na povezanost dužine korena i odnosa korena i nadzemnog dela sa drugim osobinama koje ukazuju na povećanu tolerantnost prema suši. Ranija istraživanja u vezi sa ispitivanjem uticaja stresa vodnog deficita na biljku, su se uglavnom bazirala na ispitivanjima u vezi sa dubinom i razgranatošću korenovog sistema biljke u poljskim uslovima (Zuber, 1968). U ovakvim, inače veoma zahtevnim ispitivanjima, dodatno otežanim usled delovanja drugih abiotičkih faktora, kao i spoljašnje sredine, dolazi do neizbežnog mehaničkog oštećenja korenovog sistema pri njegovom iskopavanju (Landi i sar., 2002).

Savremena istraživanja se, međutim, zasnivaju na primeni nedestruktivnih metoda ispitivanja uticaja vodnog deficita na biljku, njenim gajenjem u strogo kontrolisanim laboratorijskim uslovima. S obzirom na utvrđenu činjenicu da se ispoljene osobine klijanaca pri njihovom testiranju u različitim uslovima spoljašnje sredine, odlikuju umerenim do visokim nivoom heritabilnosti, navode se brojne prednosti sprovođenja metode *screening*-a genotipova u ranoj fazi razvića - fazi klijanca

na uticaj vodnog deficita (Khayatnezhad sar., 2010), koje se odnose na minimalni utrošak materijalnih sredstava, manju zahtevnost i veću lakoću u rukovanju, omogućavanje ispitivanja germplazme velikog obima, i što je najvažnije, omogućavanje ranog utvrđivanja prisusva / odsustva tolerantnosti na primenjeni stres (Rauf, 2008).

Za simulaciju vodnog deficita u laboratorijskim uslovima, izazivanjem osmotskog stresa, koriste se rastvori osmotikuma različite koncentracije. Osmotikum polietilen glikol (PEG,  $M_r \geq 6000$ ), je nejonski polimer rastvorljiv u vodi koji ne oštećuje ćelijski zid biljke. Neizbežan efekat PEG-a se ogleda u povećanju viskoznosti hranljivog rastvora, čime se ograničava kretanje molekula kiseonika, zbog čega je potrebno obezbediti dobru aeraciju hranljivog rastvora produvavanjem kiseonikom (Khodarahmpour, 2011). Dovodeći do redukcije osmotskog potencijala, štetan efekat PEG-a na klijance se ogleda u sprečavanju usvajanja vode korenovim sistemom, što rezultuje smanjenom sposobnošću izduživanja primarnog korena, kao i redukcijom metaboličke aktivnosti (Rajendran i sar., 2011).

Poznato je da je kukuruz osetljiv čak i na uticaj umerenog vodnog deficita (Ribaut, 2012). U ovom delu istraživanja, karakterizacija odabranih genotipova *core* kolekcije za tolerantnost prema suši, je izvršena ispitivanjem odgovora biljke kukuruza u fazi klijanca (3 - 4 lista) na simulirani stres suše umerenog intenziteta (osmotski pritisak oko 0,1 MPa), izazvan primenom 4% PEG-a.

Ispitivanje fiziološke i biohemijske osnove tolerantnosti na sušu, imala je za cilj da utvrdi, da li varijabilnost između genotipova, ispoljena u uslovima stresa suše u polju, postoji i pod uticajem simuliranog osmotskog stresa u laboratorijskim uslovima.

Analiza 48 h uticaja osmotskog stresa primenjenog na 7 dana stare klijance kukuruza, u fazi pre početka rasta sekundarnih korenova, je uključivala praćenje parametara rasta korena i nadzemnog dela, sadržaja prolina u korenu i listu, kao i sadržaja ukupnih proteina i aktivnosti rastvorljivih peroksidaza (POD; klasa III; EC 1.11.1.7) u korenu.

Redukcija ćelijskog turgora, nastalog usled dejstva vodnog deficita, posebno nepovoljno deluje na fiziološki proces ćelijskog rasta, određenog intenzitetom deobe meristemskih ćelija i stopom ekspanzije novih, mladih ćelija (Steudle, 2000). Sinteza i akumulacija jedinjenja koja doprinose snižavanju osmotskog pritiska, kao i sposobnost održanja volumena protoplasta i ćelijskog turgora, predstavljaju mehanizam osmotskog



prilagođavanja, adaptivnog odgovora biljke u prevazilaženju osmotskog stresa nastalog usled vodnog deficita (Ogava i Yamauchi, 2006). Osmotsko prilagođavanje je funkcija povećanja stope uklanjanja osmotikuma iz zone rasta (u ovom eksperimentu je to PEG) i / ili redukcije u povećanju zapremine ćelija tkiva (adaptivni odgovor koji verovatno više doprinosi održanju stope rasta biljke; Sharp i sar., 2004).

Ključnu ulogu u prevazilaženju štetnog uticaja vodnog deficita ima korenov sistem. S obzirom na to da je koren deo biljke koji je prvi izložen dejstvu stresa, pretpostavlja se da osmotsko prilagođavanje u njemu započinje pre onog u listu, omogućavajući oporavak ćelijskog turgora važnog za kontinuirani rast i apsorpciju vode i hranljivih materija (Serraj i Sinclair, 2002). Na taj način se odlaže otpočinjanje uticaja vodnog deficita u nadzemnom delu biljke, inače vrlo osetljivom čak i na minimalno smanjenje vodnog potencijala u tkivu (Hsiao i Xu, 2000). Iako su procesi rasta biljke i intenzitet fotosinteze povezani i međusobno uslovljeni, uočen je veći negativan efekat vodnog deficita na rast biljke. U vezi sa tim, povećanje odnosa koren - nadzemni deo doprinosi olakšanoj apsorpciji vode neophodne za potrebe cele biljke, i predstavlja adaptivni odgovor biljke u prevazilaženju stresa vodnog deficita (Nayyar i Gupta, 2006).

U ovom delu eksperimenta, efekat osmotskog stresa izazvanog PEG-om, na morfo-fiziološke parametre rasta kod klijanaca kukuruza, ispitan je merenjem dužine, sveže i suve mase korena i nadzemnog dela biljke.

Pod uticajem PEG-a, kod svih genotipova je došlo do prosečnog smanjenja dužine korena (u intervalu od 11,4% do 28,2%) i nadzemnog dela (u intervalu od 12,0% do 20,0%), kao i rasta bočnih korenova, dok se prosečan odnos korena i lista za dužinu kretao u intervalu od 1,8 do 2,1. Ovakvo smanjenje dužine korena i nadzemnog dela, izazvano uticajem osmotikuma je u saglasnosti sa drugim istraživanjima, i može biti rezultat smanjenja izduživanja ćelija, kao posledice smanjenja aktivnosti hormona rasta usled nedostatka vode (utičući na smanjenje ćelijskog turgora, zapremine ćelija, i na kraju sam rast ćelija), kao i / ili blokiranjem provodnih snopića ksilema i floema, čime se sprečava bilo kakva translokacija vode i hranljivih materija kroz biljku (Hsiao i Xu, 2000).

Uobičajeni negativan efekat vodnog deficita se ogleda u smanjenju stvaranja sveže mase (Zhao i sar., 2006). Kamara i sar. (2003), navode, da pojava vodnog deficita

u različitim fazama razvića kukuruza, utiče na smanjenje akumulacije ukupne biomase za 37% u fazi svilanja, u fazi nalivanja zrna za 34%, dok u fazi pune fiziološke zrelosti zrna dovodi do redukcije biomase za 21%.

Pod uticajem PEG-a, kod svih genotipova je došlo do prosečnog smanjenja sveže mase korena (u intervalu od 16,0% do 33,2%) i nadzemnog dela (u intervalu od 17,0% do 31,1%), dok je prosečan odnos korena i lista za svežu masu bio isti u kontroli i tretmanu (0,6). Dobijeni rezultati su potpuno saglasni rezultatima ispitivanja uticaja PEG-a i povećane koncentracije soli na klijance dva genotipa kukuruza, u kojima se navodi da se ovakvo smanjenje u svežoj masi korena i nadzemnog dela moglo očekivati, s obzirom da je faza klijanca kod kukuruza najosetljivija faza na uticaj stresa vodnog deficita (Farsiani i Ghobadi, 2009).

Efekat osmotskog stresa izazvanog primenom PEG-a je kod svih genotipova bio izraženiji u korenu, i imao je malog uticaja na sadržaj suve mase korena i nadzemnog dela kod genotipova domaćih i introdukovanih populacija kukuruza, krećući se u intervalu od 0,5% do 4,3% povećanja u korenu, odnosno od 0,6% do 0,8% povećanja u listu, dok je kod introdukovanih inbred linija bio mnogo izraženiji, sa prosečnim povećanjem suve mase korena od 22,2% i lista od 11,4%. Ovo relativno povećanje suve mase, uglavnom je bilo uslovljeno većim otpuštanjem vode iz biljke (usled dehidracije tkiva, kao posledice dejstva osmotikuma), i može se smatrati pokazateljem stepena osmotskog stresa (Kravić i sar., 2013).

Kod svih genotipova, prosečan odnos korena i lista za suhu masu je bio približno isti (0,7 kod domaćih i introdukovanih populacija, kao i 0,8 kod introdukovanih inbred linija), što je u saglasnosti sa drugim istraživanjima vršenim na kukuruza, u kojima je taj odnos iznosio 0,5 (Mc Cully, 1995).

Akumulacija prolina u citosolu, doprinosi osmotskom prilagođavanju biljke u uslovima vodnog deficita i izraženog osmotskog pritiska. Prolin učestvuje u regulaciji mitohondrijalne aktivnosti i predstavlja okidač specifične genske ekspresije, koja može biti od izuzetne važnosti za oporavak biljke od stresa (Szabados i Savouré, 2009).

Ahmed i Hasan (2011), navode da se pod uticajem vodnog deficita, akumulacija prolina povećava nekoliko puta u odnosu na normalan nivo u odsustvu stresa, što čini 80% ukupnog aminokiselinskog sastava.

U ovom istraživanju, efekat osmotskog stresa na sadržaj prolina kod svih genotipova kukuruza je bio mnogo izraženiji u korenu, dovodeći do prosečnog povećanja njegove akumulacije u intervalu od 35,5% do 59,2%, dok se povećanje nivoa sadržaja prolina u listu kretalo u intervalu od 11,4% do 29,1%. Prosečan odnos korena i lista za sadržaj prolina je kod svih genotipova bio veći u tretmanu, i kretao se u intervalu od 1 do 1,7. Rezultati ovih istraživanja su saglasni sa činjenicom da je stepen osmotskog stresa u direktnoj korelaciji sa nivoom akumuliranog prolina, da se sa povećanjem intenziteta stresa, povećava i nivo sadržaja prolina (Claussen, 2005), kao i da koncentracija prolina može poslužiti kao dobar biohemijski pokazatelj nivoa stresa (Sofa i sar., 2004).

Značaj proteina se ogleda u njihovom učestvovanju u svim ćelijskim procesima, kao i povezanosti sa promenama genske ekspresije neohodne za sposobnost biljke u prevazilaženju štetnog uticaja stresa (Bakalova i sar., 2008). Promene u načinu delovanja i remećenje metaboličkih procesa u uslovima vodnog deficita (dehidratacija), utiče na nivo ukupnih rastvorljivih proteina u biljci. Istraživanja su pokazala da se uticaj vodnog deficita može različito odraziti na nivo ukupnih rastvorljivih proteina.

U istraživanjima Ashrafa i Irama (2005), vršenim na korenu klijanaca graška, utvrđen je smanjeni nivo ukupnih rastvorljivih proteina u uslovima vodnog deficita, koji je doveden u vezu sa njihovom hidrolizom i značajnim povećanjem nivoa ukupnih slobodnih aminokiselina i prolina. Međutim, u drugim istraživanjima vršenim na korenu klijanaca dva genotipa kukuruza, pod uticajem osmotskog pritiska od 0,15MPa, utvrđeno je povećanje nivoa ukupnih rastvorljivih proteina za 31%, odnosno za 26%, što je dovedeno u vezu sa njihovom povećanom stopom sinteze, predstavljajući adaptivni odgovor biljke na primenjeni stres (Mohammadkhani i Heidari, 2008a).

Dobijeni rezultati u ovom istraživanju, su u potpunoj saglasnosti sa rezultatima prethodno navedenih istraživanja. Kod većine genotipova domaćih populacija, primenjeni osmotski stres je izazvao smanjenje sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina, krećući se u intervalu od 0,66% do 25,31%, dok je samo kod tri genotipa kukuruza došlo do povećanja sadržaja proteina, u intervalu od 3,63% do 12,26%. Kod polovine ispitivanih genotipova (i introdukovanih populacija i introdukovanih inbred linija), primenjeni osmotski stres je izazvao kako smanjenje sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina, (u intervalu od 6,2% do 23,3% kod introdukovanih populacija, odnosno u

intervalu od 0,5% do 28,2% kod introdukovanih inbred linija), tako i povećanje sadržaja ukupnih proteina (u intervalu od 1,0% do 15,6% kod introdukovanih populacija, odnosno u intervalu od 3,3% do 67,7% kod introdukovanih inbred linija).

S obzirom na to da su promene sadržaja prolina kod svih genotipova bile mnogo izraženije u korenu nego u listu, analiza peroksidazne aktivnosti je izvedena u korenu klijanaca, podvrgnutih uticaju PEG-om indukovanog osmotskog stresa. Ranije je pokazano da peroksidaze (klase III, EC 1.11.1.7) iz tkiva korena kukuruza, koriste vodonik peroksid za oksidaciju različitih fenolnih jedinjenja (Hadži-Tašković Šukalović i sar., 2005). Kako u procesima lignifikacije i umrežavanja polimera ćelijskog zida, za supstrate koriste koniferil alkohol i ferulinsku kiselinu (Ralph, 2010), peroksidaze imaju značajnu ulogu u procesima regulisanja rasta.

U ovom delu eksperimenta, ferulinska kiselina je korišćena kao prirodni supstrat za ispitivanje peroksidazne aktivnosti u uzorcima. Ferulinska kiselina je supstrat peroksidaza apoplasta (Maksimović i sar., 2008), a verovatno i endomembranskih peroksidaza, jer se oksidativno povezivanje feruol bočnih lanaca (kao tipa umrežavanja koji doprinosi očvršćavanju ćelijskog zida), odvija u ćelijskom zidu (Sanchez i sar., 1996) i unutar endomembranskog sistema pre izlučivanja polisaharida u unutrašnjost ćelijskog zida, kako navodi Fry (2004).

U ovom istraživanju, pod uticajem osmotskog stresa izazvanog dejstvom PEG-a, došlo je kako do smanjenja (u intervalu od 0,1% do 22,1%, odnosno od 4,6% do 35,8%), tako i do povećanja (u intervalu od 0,9% do 39,75%, odnosno od 1,09% do 61,65%) aktivnosti POD na gram sveže mase i specifične peroksidazne aktivnosti u korenu klijanaca.

Rezultati koji ukazuju na smanjenje POD aktivnosti su u potpunoj saglasnosti sa rezultatima vršenim na korenu klijanaca kukuruza gajenih u sličnim uslovima (Vuletić i sar., 2010), na repi (stres izazvan PEG-om; Omidi, 2010), kao i na korenu klijanaca kukuruza u uslovima povećane koncentracije soli (Rios-Gonzales i sar., 2002).

S druge strane, povećana POD aktivnost u uslovima vodnog deficita, je utvrđena u korenu mnogih biljnih vrsta (Fazeli i sar., 2007), kao i u uslovima povećane koncentracije soli (Polesskaya i sar., 2004). Takođe, ispitivanja specifične POD aktivnosti, vršena na korenu pšenice, su pokazala pozitivnu korelaciju između promene

POD aktivnosti i povećane tolerantnosti na uticaj abiotičkog stresa (Csiszár i sar., 2008).

Izoelektričnim fokusiranjem, uočen je niz POD izoformi u opsegu pI ~ 4 do 6,2. Izoenzimski profili su otkrili izvesne genotipske razlike. Kod većine genotipova, pod uticajem osmotskog stresa izazvanog PEG-om, došlo je do povećanja intenziteta traka; najizraženija (pogotovo kod introdukovanih inbred linija kukuruza), je bila anjonska izoforma na pI ~ 5,9. S obzirom na to da je pokazano da su anjonske peroksidaze uključene u proces lignifikacije tokom formiranja korena (Gaspar i sar., 1985), može se pretpostaviti da je kod biljaka u tretmanu došlo do povećane stope stvaranja lignina.

Stepen povezanosti parametara rasta klijanaca kukuruza analiziran je preko odnosa promene tretmana u odnosu na kontrolu. U korenu su utvrđene statistički značajne i izrazito visoko značajne pozitivne korelacije između promene dužine i promene sveže mase, statistički značajne negativne korelacije između promene dužine i promene suve mase, kao i statistički izrazito visoko značajne negativne korelacije između promena sveže i suve mase. Isti, statistički izrazito visoko značajni korelacioni odnosi su utvrđeni i u nadzemnom delu.

Kako korenov sistem ima ključnu ulogu u prevazilaženju štetnog uticaja vodnog deficita, njegova smanjena sposobnost usvajanja vode i hranljivih materija, što je direktna posledica dejstva PEG-a, rezultirala je smanjenjem intenziteta deobe i izduživanja ćelija korena i nadzemnog dela, kao i smanjenom sintezom građivnih materija (Mohammadkhani i Heidari, 2008b).

U ovom istraživanju, takođe je utvrđena statistički značajna povezanost morfoloških (parametri rasta) i fiziološko-biohemijjskih parametara. I u korenu i u listu su utvrđene statistički značajne i izrazito visoko značajne negativne korelacije između promene sadržaja prolina i promene sveže mase, statistički značajne negativne korelacije između promene sadržaja prolina i promene dužine korena, kao i statistički izrazito visoko značajne pozitivne korelacije između promene sadržaja prolina i promene suve mase.

Iako rezultati ovih ispitivanja, dobijeni u ranoj fazi razvića biljke, ne ukazuju direktno na učešće prolina u tolerantnosti prema suši, može se pretpostaviti da će povećanje sadržaja prolina pozitivno stimulisati adaptivni mehanizam biljke za prevazilaženje i oporavak od stresa vodnog deficita u kasnijim fazama razvića. Kako je

rast uglavnom proces koji zahteva utrošak energije, može se pretpostaviti da akumulacija prolina u uslovima osmotskog stresa, doprinosi uštedi energije inhibirajući rast korena i predstavlja za biljku izvor energije i amino grupa po prestanku stresa (Shao i sar., 2007).

Zbog svoje uloge u „gušenju“ štetnih radikala (*scavenging*), u održavanju redoks statusa i metabolizma fenola (Szabados i Savouré, 2010), ispitana je moguća korelacija prolina sa peroksidaznom aktivnošću u uslovima osmotskog stresa. Samo kod genotipova introdukovanih inbred linija kukuruza, utvrđena je statistički značajna negativna korelacija između promene sadržaja prolina i specifične POD aktivnosti ( $r = -0,610^*$ ). Ova korelacija, kao i značajna pozitivna korelacija između promene specifične POD aktivnosti i promene sveže mase ( $r = 0,572^*$ ), ukazuje, da genotipovi sa manje izraženom redukcijom rasta u uslovima stresa, ispoljavaju povećanu POD aktivnost i nižu stopu akumulacije prolina.

Rezultati koji se tiču odnosa prolina i POD aktivnosti, mogu se objasniti vodonik peroksid indukovanom akumulacijom prolina (Yang i sar., 2009). Peroksidaze klase III, lokalizovane u apoplastu, vakuolama i mitohondrijama (Hadži-Tašković Šukalović i sar., 2007), su uključene u regulaciju koncentracije vodonik peroksida. Moglo bi se očekivati da niže aktivnosti rastvorljivih peroksidaza u uslovima stresa, za posledicu mogu imati povećanje sadržaja vodonik peroksida u citosolu, koje bi moglo biti uključeno u procese signalne transdukcije, dovodeći do akumulacije prolina aktiviranjem njegove biosinteze. Pored aktivacije biosinteze prolina, inhibicija degradacije prolina, usled inhibitornog dejstva vodonik peroksida na enzim dehidrogenazu prolina u mitohondrijama, ne može biti isključena (Yang et al. 2009).

U cilju sveobuhvatnijeg uvida u odgovor biljke na različite uslove spoljašnje sredine (prisustvo i odsustvo osmotikuma u hranljivom rastvoru), istovremenim razmatranjem svih ispitivanih morfoloških i fiziološko-biohemijskih parametara (dužine, sveže i suve mase korena i nadzemnog dela, sadržaja prolina u korenu i listu, kao i sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina i peroksidazne aktivnosti u korenu), utvrđeno je postojanje izražene varijabilnost među genotipovima. Ono što je važno istaći, je da su se genotipovi na veoma sličan način grupisali i u kontroli i u tretmanu, što potkrepljuje utvrđenu činjenicu da se ispoljene osobine klijanaca pri testiranju u

različitim uslovima spoljašnje sredine, odlikuju umerenim do visokim nivoom heritabilnosti (Bibi i Akram, 2012).

U nastojanju da se utvrdi povezanost odgovora kukuruza u ranoj fazi razvića u kontrolisanim laboratorijskim uslovima, sa njegovim agronomskim performansama u uslovima stresa suše u polju, vršena su brojna istraživanja.

Istraživanje bazirano na poređenju odnosa rasta 13 genotipova kukuruza u fazi klijanca i prinosa zrna u polju, zasnivalo se na merenju indeksa tolerantnosti prema suši  $DSI_{GY}$  (*drought susceptibility index*), izraženog preko promene prinosa u prisustvu / odsustvu navodnjavanja, i indeksa tolerantnosti prema suši  $DSI_{FW}$ , izraženog preko promene sveže mase u prisustvu / odsustvu vodnog deficita. Utvrđena je statistički značajna pozitivna korelacija ( $r = 0,614$ ;  $p=0.05$ ). Rangiranje datih genotipova prema stepenu tolerantnosti, bazirano na  $DSI_{GY}$ , bilo je u potpunoj saglasnosti sa rangiranjem baziranim na  $DSI_{FW}$ , što ukazuje da je svojstvo tolerantnosti na sušu ispoljeno u fazi klijanaca jednako onom ispoljenom u reproduktivnoj fazi, tj. da je u potpunosti, ili bar delimično genetički uslovljeno (Grzesiak i sar., 2012).

Rezultati istraživanja su u potpunoj saglasnosti sa dobijenim rezultatima u okviru ovog istraživanja. Kod svih populacija kukuruza (i domaćih i introdukovanih), utvrđena je ista statistički značajna pozitivna korelacija između promene sveže mase korena pod dejstvom PEG-a i prinosa zrna / biljci ( $r = 0,599^*$ , u Zemun Polju), dok je kod introdukovanih populacija u Skoplju iznosila  $r = 0,573^*$ .

Kod introdukovanih inbred linija, poređenjem prinosa zrna / biljci u polju, u uslovima stresa suše (u Skoplju), sa promenom sadržaja prolina u korenu klijanaca u uslovima osmotskog stresa, utvrđena je značajna pozitivna korelacija ( $r = 0,519^*$ ). Takođe je utvrđena i visoko značajna negativna korelacija između promene dužine korena klijanaca i prinosa zrna / biljci ( $r = -0,658^{**}$ , u Zemun Polju).

Na osnovu ovakvih rezultata moglo bi se pretpostaviti da bi genotipovi sa slabije razvijenim korenovim sistemom u fazi klijanca, kao posledice štetnog dejstva osmotikuma, mogli davati veći prinos. To je u potpunoj saglasnosti sa rezultatima ispitivanja odnosa ranog porasta korena klijanaca kukuruza i efekta suše na prinos, u kojima je utvrđeno da je veći prinos u uslovima suše u korelaciji sa redukovanom biomasom korena (Bruce i sar., 2002).

U cilju očuvanja i održivog korišćenja biljnih genetičkih resursa, kao komplementarne tradicionalnom pristupu, za određivanje genetičkog diverziteta direktno na nivou DNK sekvence, primenjuju se tehnike molekularnih markera (Aguirre i sar., 2000; Gautier i sar., 2002). SSR markeri (PCR zasnovani molekularni markeri), u širokoj su upotrebi, veoma su polimorfni, informativni, kodominantni (omogućavaju detekciju heterozigota), brojni i ravnomerno raspoređeni po genomu (Chambers i MacAvoy, 2000).

Procena genetičkog diverziteta je ključni korak u razumevanju odnosa između i unutar genotipova domaćih populacija, introdukovanih populacija i inbred linija kukuruza, njihove genetičke strukture, kao i za uspostavljanje prioriteta za njihovo očuvanje i korišćenje kao roditeljskih komponenti i izvora poželjnih osobina, u procesu stvaranja komercijalnih hibrida poboljšanih performansi u nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine.

U ovom delu eksperimenta, za određivanje genetičke varijabilnosti genotipova kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost prema suši, urađena je molekularna karakterizacija na grupnim uzorcima, primenom 18 SSR molekularnih markera (za analizu domaćih populacija i introdukovanih inbred linija), od kojih su, kod genotipova introdukovanih populacija, 2 SSR markera bila neinformativna. Ukupan broj polimorfnih traka kod introdukovanih inbred linija je bio 69, čime je u proseku dobijeno 3,8 alela po prajmeru, što je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima, u kojima se navodi da je kod 40 američkih inbred linija kukuruza prosečan broj alela dobijenih sa 83 SSR markera iznosio 4,9 (Lu i Bernardo, 2001), dok je kod 94 elitne inbred linije prosečan broj alela, dobijenih sa 70 SSR markera, iznosio 5,0 (Senior i sar., 1998). Pri analizi introdukovanih populacija, dobijeno je 85 polimorfnih traka sa prosečno 5,3 alela po prajmeru. Kod domaćih populacija je dobijen najveći broj polimorfnih traka (155), sa prosečno 8,6 alela po prajmeru i saglasno je prethodnom istraživanju 21 lokalne populacije sa teritorija bivše Jugoslavije, u kome je primenom 30 SSR markera dobijeno prosečno 9,32 alela po prajmeru (Ignjatović-Micić, 2008).

Izbor koeficijenta za utvrđivanje genetičke varijabilnosti, zavisi od osobina samog markera koji se koristi, porekla germplazme, taksonomske operativne jedinice, ciljeva istraživanja, kao i od zahteva primenjene multivarijacione analize (Reif i sar., 2005b; Balestre i sar., 2008).



Na osnovu prisustva / odsustva SSR fragmenata za ispitivane genotipove, izračunati su koeficijenti sličnosti po metodi Jaccard-a (1908). Analizom je utvrđen visok stepen genetičkog diverziteta između genotipova kukuruza unutar svake ispitivane grupe (domaće populacije, introdukovane populacije i introdukovane inbred linije). Prosečna vrednost genetičke sličnosti kod genotipova domaćih populacija kukuruza je iznosila 0,31, kod genotipova kukuruza iz grupe introdukovanih populacija je iznosila 0,54, dok je kod genotipova iz grupe introdukovanih inbred linija, prosečna vrednost genetičke sličnosti bila 0,37. U istraživanjima Kumara i sar. (2012), analizom 91 inbred linije kukuruza, primenom 40 SSR molekularnih markera (prosečna vrednost alela po prajmeru je iznosila 3,1), korišćenjem koeficijenta sličnosti po Jaccard-u, prosečna vrednost genetičke sličnosti je iznosila 0,55.

Za sve tri grupe genotipova su izračunati ko-fenetički koeficijenti korelacije između matrica genetičkih sličnosti po Jaccard-u, testirani *Mantel*-ovim testom (1967). Najbolji stepen poklapanja sličnosti genotipova sa njihovim grupisanjem u klastere je utvrđeno kod grupe domaćih populacija ( $r = 0,84$ ), kod inbred linija stepen poklapanja je iznosio  $r = 0,81$ , dok je za grupu introdukovanih populacija kukuruza, iako dobar, bio najniži ( $r = 0,76$ ).

Na osnovu matrica genetičkih sličnosti po Jaccard-u, za sve tri grupe genotipova je urađena klaster analiza *UPGMA* metodom grupisanja.

Sam izgled klastera genotipova domaćih populacija, ukazuje na genetički veoma različite populacije kukuruza. Može se zaključiti da se jasno izdvaja populacija  $K_2$  (*BSSS* osnove, na osnovu testiranja opšte kombimacione sposobnosti sa odabranim inbred testerima), kojoj ni jedna od ispitivanih domaćih populacija nije genetički slična, kao i da se grupišu genotipovi nezavisne ( $K_5, K_6, K_8, K_{10}$  i  $K_{11}$ ) i *Lancaster* osnove ( $K_1, K_3, K_4, K_9$  i  $K_{12}$ ). Ovo je bilo u potpunoj saglasnosti sa podacima o njihovoj kombinacionoj sposobnosti (Anđelković i sar., 2010).

Iako je grupisanje genotipova introdukovanih populacija bilo izraženije nego kod domaćih populacija kukuruza, uočeno je postojanje genetičke varijabilnosti između genotipova. Izdvajanje genotipa  $P_7$ , kao genetički najudaljenijeg od svih analiziranih introdukovanih populacija (većinom *Lancaster* i *BSSS* osnove), bilo je u saglasnosti sa podacima o njegovoj dobroj kombinacionoj sposobnosti sa sva tri korišćena heterotična

izvora (*BSSS*, *Lancaster* i nezavisni), čineći tako nov, sasvim različit izvor poželjne germplazme.

Na osnovu klaster analize genotipova inbred linija, uočeno je uslovno (zbog postojanja izražene genetičke varijabilnosti genotipova), grupisanje genotipova nezavisne i *BSSS* osnove (na osnovu njihove kombinacione sposobnosti), pri čemu se izdvajaju genotipovi  $L_3$  i  $L_8$ , kao najudaljeniji genotipovima ove grupe i dobre kombinacione sposobnosti sa sva 3 korišćena heterotična izvora, predstavljajući izuzetno poželjan izvor nove germplazme za potrebe savremenih programa oplemenjivanja. S druge strane, uočeno je grupisanje genotipova *Lancaster* osnove, što je u potpunosti saglasno podacima o njihovoj dobroj kombinacionoj sposobnosti sa testerima *BSSS* i nezavisne osnove (Anđelković i sar., 2010).

Radi potpunijeg sagledavanja genetičke varijabilnosti genotipova kukuruza *core* kolekcije za tolerantnost prema suši, dobijenih SSR molekularnim markerima, urađena je korespondenciona analiza, koja rezultate komplementarne klaster analizi, daje u vidu kontinuirane varijabilnosti. Korespondencijalna analiza je informativnija i preciznija od klaster analize, pogotovo u slučajevima gde je značajno prisutna razmena genetičkog materijala između geografski bliskih populacija (Cavalli-Sforza, 1994).

Uz istovremeno uočavanje izuzetne genetičke varijabilnosti između genotipova domaćih populacija, vidi se i jasno izdvajanje genetički najudaljenijih populacija  $K_2$ , *BSSS* osnove i  $K_{10}$ , nezavisne osnove.

Korespondencijalnom analizom introdukovanih populacija kukuruza, potvrđeno je grupisanje genotipova  $P_3$ ,  $P_4$ ,  $P_7$  i  $P_8$  (*Lancaster* i nepoznate osnove), ali i pripajanje genotipa  $P_{11}$  (takođe *Lancaster* osnove), na osnovu negativnih vrednosti prve dimenzije, koja obuhvata 29,1% genetičke varijabilnosti. Sa pozitivnim vrednostima prve dimenzije uočavaju se dve grupe genotipova koji u sebi sadrže *Lancaster* osnovu, a to su  $P_9$ ,  $P_{10}$  i  $P_{13}$  (prva grupa), kao i genotipovi druge grupe  $P_5$ ,  $P_6$ ,  $P_{12}$  i izdvojeni genotip nepoznatog porekla  $P_2$  (na osnovu dobre kombinacione sposobnosti sa sva 3 heterotična izvora).

Korespondencijalnom analizom genotipova introdukovanih inbred linija, potvrđeno je, ali i mnogo jasnije uočeno izdvajanje genotipova *Lancaster* osnove  $L_4$ ,  $L_5$  i  $L_6$ . Zajedničko za sve ostale introdukovane inbred linije kukuruza, iako se među sobom veoma razlikuju, je da sve imaju negativnu vrednost prve dimenzije

korespondencijalne analize, koja objašnjava 24,0% genetičke varijabilnosti. Takođe je uočeno bolje izdvajanje genotipa L<sub>11</sub>, koji je, iako *Lancaster* osnove (na osnovu kombinacione sposobnosti), po klaster analizi grupisan sa genotipovima nezavisne i *BSSS* osnove, što je u saglasnosti sa istraživanjima vršenim na klasifikaciji elitnih linija kukuruza iz Severne Dakote, u kojima se navodi da još uvek postoji znatna nepodudarnost između podataka dobijenih na osnovu analize molekularnim markerima, sa podacima iz poljskih ogleda (Barata i Carena, 2006).

Kako heterotične grupe predstavljaju odlučujući faktor za širu upotrebu germplazme u cilju dobijanja hibrida što boljih performansi, upotreba molekularnih markera dodatno pomaže u njihovom definisanju, u sagledavanju odnosa između genotipova na nivou DNK sekvence, kao i svrstavanju genotipova u nove ili već postojeće heterotične grupe, sa ciljem njihovog što efikasnijeg korišćenja u savremenim programima oplemenjivanja kukuruza (Xia i sar., 2005).

Na osnovu ispoljenog odgovora, testiranjem u poljskim uslovima aridnog i umerenog klimata, praćenjem sekundarnih osobina, pokazatelja tolerantnosti prema stresu suše, testiranjem u ranoj fazi razvića, praćenjem fiziološko-biohemijske osnove tolerantnosti na primenjeni osmotski stres, kao i na osnovu izrazite genetičke varijabilnosti utvrđene karakterizacijom SSR molekularnim markerima, odabrani genotipovi kukuruza, koji u sebi sadrže povećanu tolerantnost prema suši, biće korišćeni kao polazna osnova za primenu metoda klasične selekcije, za proširivanje genetičke osnove elitnog materijala, popravku postojećih i dobijanje novih inbred linija i hibrida tolerantnih prema suši, sa ciljem ostvarivanja većeg i stabilnijeg prinosa u takvim uslovima.

## 8. ZAKLJUČCI

- Identifikovan je i odabran 41 genotip kukuruza, kao najtolerantniji na stres suše, istovremeno adaptiran na lokalne uslove i dobre kombinacione sposobnosti - 13 domaćih populacija, 13 introdukovanih populacija i 15 introdukovanih inbred linija, čime je formirana *core* kolekcija za tolerantnost prema suši.
- Od izuzetnog značaja je bilo izdvajanje 6 genotipova, koji su se dobro kombinovali sa sva tri korišćena heterotična izvora, čineći potencijalno nov i sasvim različit izvor poželjne germplazme.
- Kod svih genotipova, povećana tolerantnost na stres suše u fazi cvetanja, praćena je značajnim smanjenjem u broju dana između metličanja i svilanja (ASI), kao i redukcijom jalovosti biljke. ASI je bio najmanji u Egiptu, a najveći u Skoplju, i kretao se u intervalu od 1,31 dana do 2,69 dana. Jalovost biljke je imala isti trend kao izmereni ASI, sa najnižom prosečnom vrednošću u Egiptu i najvišom u Zemun Polju, krećući se u intervalu od svega 4,41% do 13,16%.
- Oznjenost klipa je imala obrnuti trend u odnosu na izmereni ASI, krećući se u intervalu od 78,67% u Skoplju do 93,08% u Egiptu.
- Nalivenost zrna se kretala u intervalu od 81,0% u Skoplju do 95,38% u Egiptu, ukazujući na povećanu sposobnost usvajanja i korišćenja asimilata iz vegetativnih delova biljke.
- Osobina *stay green-a*, sa istim trendom ispoljavanja kod svih genotipova, najizraženija je bila u Egiptu (u uslovima izraženog vodnog deficita), a najslabije ispoljena u Zemun Polju (u uslovima umerenog vodnog deficita).
- Ostvareni prosečan prinos zrna / biljci za sve genotipove je bio veći u Zemun Polju u odnosu na Skoplje.
- Ispitivana morfo-fiziološka i biohemijska osnova tolerantnosti na sušu u ranoj fazi razvića kukuruza u uslovima simuliranog osmotskog stresa, potvrdila je postojanje varijabilnosti između genotipova, ispoljene u uslovima stresa suše u polju.
- Pod uticajem osmotskog stresa, došlo je do smanjenja rasta bočnih korenova, dužine i sveže mase, kao i manjeg povećanja relativne suve mase korena i

nadzemnog dela, uglavnom uslovljenog većim otpuštanjem vode iz biljke, što se može smatrati pokazateljem stepena osmotskog stresa.

- Povećani odnos koren - nadzemni deo za sve posmatrane morfo-fiziološke parametre, ukazao je na postojanje adaptivnog odgovora biljke u prevazilaženju stresa vodnog deficita, doprinoseći lakšoj apsorpciji vode neophodne za potrebe cele biljke.
- Efekat osmotskog stresa na sadržaj prolina je bio mnogo izraženiji u korenu, dovodeći do prosečnog povećanja njegove akumulacije i do 59.2 %, što ukazuje da je stepen osmotskog stresa bio u direktnoj korelaciji sa nivoom akumuliranog prolina.
- Primenjeni osmotski stres je izazvao promenu sadržaja ukupnih rastvorljivih proteina u odnosu na kontrolu, što je dovedeno u vezu sa njihovom hidrolizom i značajnim povećanjem nivoa prolina, odnosno sa njihovom povećanom stopom sinteze, predstavljajući adaptivni odgovor biljke na primenjeni osmotski stres.
- Zbog značajne uloge u procesima regulisanja rasta, povećane POD aktivnosti u uslovima osmotskog stresa, su ukazale na povećanu tolerantnost genotipova na uticaj osmotskog stresa.
- Povećanje intenziteta anjonskih POD izoformi u tretmanu, ukazalo je na povećanu stopu stvaranja lignina tokom formiranja korena.
- Utvrđeni statistički značajan negativan ( $r = -0,610^*$ ), kao i značajan pozitivan ( $r = 0,572^*$ ) koeficijent korelacije između specifične POD aktivnosti i promene sadržaja prolina, odnosno promene sveže mase u korenu, pokazali su, da su genotipovi sa manje izraženom redukcijom rasta u uslovima stresa, ispoljili povećanu POD aktivnost i nižu akumulaciju prolina.
- Statistički visoko značajni koeficijenti korelacije između promene sadržaja prolina i promene dužine, sveže i suve mase korena i lista, ukazali su da je akumulacija prolina u uslovima osmotskog stresa, doprinela uštedi energije inhibirajući rast korena, predstavljajući za biljku izvor energije i amino grupa po prestanku dejstva stresa.
- Utvrđeni značajan pozitivan koeficijent korelacije prinosa zrna / biljci u polju sa promenom sadržaja prolina u korenu klijanaca ( $r = 0,519^*$ ), kao i visoko značajan negativan koeficijent korelacije sa promenom dužine korena klijanaca

( $r = -0,658^{**}$ ) u uslovima osmotskog stresa, ukazuju, da bi genotipovi sa slabije razvijenim korenovim sistemom u ranoj fazi razvića, kao posledice štetnog dejstva osmotikuma, mogli davati viši prinos u uslovima stresa suše.

- Veoma sličan način grupisanja prema odgovoru biljke na prisustvo / odsustvo osmotikuma u hranljivom rastvoru, pokazuje da su ispoljene osobine klijanaca kukuruza, testiranjem u različitim uslovima spoljašnje sredine, genetički determinisane.
- Posmatrani morfološki i fiziološko-biohemijski parametri, kao pokazatelji primenjenog stresa, mogu poslužiti kao dobri indikatori ranog utvrđivanja prisustva / odsustva tolerantnosti kod kukuruza.
- Utvrđen je visok stepen genetičkog diverziteta između genotipova unutar svake ispitivane grupe (domaće populacije, introdukovane populacije i introdukovane inbred linije kukuruza). Prosečna vrednost genetičke sličnosti genotipova domaćih populacija je iznosila 0,31, genotipova introdukovanih populacija je iznosila 0,54, dok je kod genotipova iz grupe introdukovanih inbred linija bila 0,37.
- Najbolji stepen poklapanja genetičke sličnosti genotipova kukuruza sa njihovim grupisanjem u klastere je utvrđen kod grupe domaćih populacija ( $r = 0,84$ ), kod inbred linija stepen poklapanja je iznosio  $r = 0,81$ , dok je za grupu introdukovanih populacija, iako dobar, bio najniži ( $r = 0,76$ ).
- SSR molekularna karakterizacija potvrdila je grupisanje genotipova *core* kolekcije kukuruza na tolerantnost prema suši u odgovarajuće heterotične grupe, na osnovu njihove kombinacione sposobnosti sa korišćenim inbred testerima.
- Odabrani genotipovi kukuruza, koji u sebi sadrže povećanu tolerantnost prema suši, biće korišćeni kao polazna osnova za primenu metoda klasične selekcije, za proširivanje genetičke osnove elitnog materijala, popravku postojećih i dobijanje novih inbred linija i hibrida tolerantnih prema suši, sa ciljem ostvarivanja većeg i stabilnijeg prinosa u takvim uslovima.

## 9. LITERATURA

Abdelmula, A.A, S.A. Ibrahim Sabie1. (2007): Genotypic and differential responses of growth and yield of some maize (*Zea mays* L.) genotypes to drought stress. University of Kassel-Witzenhausen and University of Gottingen.

Aguirre, J.A., M.R. Bellon, M. Smale (2000): A regional analysis of maize biological diversity in Southeastern Guanajuato, Mexico. *Economic Botany* 54: 60-72.

Ahmadi, A., D.A. Baker (2001): The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regulation* 35: 81-91.

Ahmed, J., M. Hasan (2011): Evaluation of seedling proline content of wheat genotypes in relation to heat tolerance. *Bang J Bot.* 40: 17-22.

Allan, R.P., B.J. Soden (2008): Atmospheric warming and the amplification of precipitation extremes. *Science* 321: 1481-1484.

Andersen, J.R., T. Lübberstedt (2003): Functional markers in plants. *Trends in Plant Science* 8: 554-560.

Anđelković, V. (2000): Identifikacija pokazatelja otpornosti kukuruza (*Zea mays* L.) prema suši kod top-cross potomstva sa egzotičnom germplazmom. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu

Anđelković, V., S. Božinović, M. Pavlov, J. Vančetović (2010): Combining abilities for grain yield of the most drought tolerant maize accessions from the MRI gene bank. *Genetics, Plant Breeding and Seed Production*, 45<sup>th</sup> Croatian & 5<sup>th</sup> International Symposium on Agriculture. Proceedings, 368-371.

Andjelkovic, V., N. Kravic, J. Vancetovic, V. Dragicevic, S. Mladenovic Drinic (2011): Maize landraces as a natural source of beneficial traits. Proceeding of the 4<sup>th</sup> International scientific conference, Vukovar, Croatia, pp. 37-45.

Araus, J.L., J. Bort, P. Steduto, D. Villegas, C. Royo (2003): Breeding cereals for Mediterranean conditions: Ecophysiological clues for biotechnology applications. *Ann. Appl. Biol.* 142: 129-141.

Araus, J.L., M.D. Serret, G.O. Edmeades (2012): Phenotyping maize for adaptation to drought. *Frontiers in Physiology* 3: 1-20.

Arboleda-Rivera, F., W.A. Compton (1974): Differential response of maize (*Zea mays* L.) to mass selection in diverse selection environments. *Theor. Appl. Genet.* 44: 77-81.

Arora, A., R.K. Sairam, G.C. Sriuastava (2002): Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current Science*, 82: 1227-1238.

Ashraf, M., A.T. Iram (2005): Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora* 200: 535-546.

Babić, M., V. Anđelković, S. Mladenović Drinić, K. Konstantinov (2011): The conventional and contemporary technologies in maize (*Zea mays* L.) breeding at Maize Research Institute, Zemun Polje. *Maydica* 56: 155-164.

Bakalova, S., D. Nedeva, J. McKee (2008): Protein profiles in wheat seedlings subjected to dehydration stress. *Applied Ecology and Environmental Research* 6: 37-48.

Balestre, M., R.G. Von Pinto, J.C. Souza, J.L. Lima (2008): Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research* 7: 695-705.



Barata, C., M. Carena (2006): Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. *Euphytica* 151: 339-249.

Barker, T., H. Campos, M. Cooper, D. Donlan, G.O. Edmeades, J. Habben, J. Schussler, D. Wright, C. Zinselmeier (2005): Improving drought tolerance in maize. *Plant Breeding Reviews* 25: 173-253.

Bänziger, M., G.O. Edmeades, D. Beck, M. Bellon (2000): Breeding for Drought and Nitrogen Stress Tolerance in Maize: From Theory to Practice. Mexico D.F.: CIMMYT.

Bänziger, M., J.L. Araus (2007): Recent advances in breeding maize for drought and salinity stress tolerance. In: *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, Jenks, M.A., P.M. Hasegawa and S.M. Jain (Eds). Springer Verlag, Dordrecht, The Netherlands, pp. 587-601.

Barnabas, B., K. Jager, A. Feher (2008): The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. *Plant Cell Environ.* 31: 11-38.

Bates, L.S., S.P. Waldren, I.D. Teare (1973): Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.

Beadle, G.W. (1939): Teosinte and the Origin of Maize. *Journal of Heredity* 30: 245-247.

Beck, D., J. Betrán, M. Bänziger, G.O. Edmeades, J.M. Ribaut, M. Willcox, S.K. Vasal, C. Ortega (1996): Progress in developing drought and low soil nitrogen tolerance in maize. In: D. Wilkinson (ed.) *Proceedings of 51<sup>st</sup> Annual Corn and Sorghum Research Conference*, Chicago, Washington, D.C.: ASTA. Pp. 85-111.

Benz, B.F. (2001): Archaeological evidence of teosinte domestication from Guilá Naquitz, Oaxaca. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 2104-2106.

Bergmann, F., H.R. Gregorius, F. Scholz (1989): Isoenzyme: indicators of environmental impact on plants or environmentally stable gene markers? In: Genetic Effects of Air Pollutants in Forest Tree Populations (F. Scholz, H.R. Gregorius and D. Rudin, Eds.), Springer-Verlag Heidelberg, New York, Tokyo, 17-28.

Bibi, A., H.A. Sadaqat, M.H.N. Tahir, H.M. Akram (2012): Screening of Sorghum (*Sorghum bicolor* Var Moench) for drought tolerance at seedling stage in polyethylene glycol. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 22: 671-678.

Bidhendi, M.Z., R.Choukan, F. Darvish, K. Mostafavi, E. Majidi (2012): Classifying of maize inbred lines into heterotic groups using diallel analysis. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 67: 1368-1371.

Blum, A. (1979): Breeding programs for improving drought resistance in crop plants: a case for sorghum. In: *Stress physiology in crop plants*. H. Mussell and R.C. Staples (Eds). Wiley Interscience, New York: 429-445.

Blum, A. (1983): Breeding programs for improving crop resistance to water stress. In: *Crop reactions to water and temperature stress in humid, temperate climates*. Pp. 263-274. Jr. C.D. Raper and P.J. Kramer (Eds.). Westview Press; Boulder; Colorado, USA.

Blum, A. (1988): *Plant breeding for stress environments*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, USA.

Blum, A. (1998): Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilisation. *Euphytica* 100: 77-83.

Blum, A. (2006): Drought adaptation in cereal crops: a prologue. In: *Drought Adaptation in Cereals*, ed. J.M. Ribaut (Binghamton, NY: The Haworth Press Inc.): 3-15.

Bohnert, H.J., R.G Jensen (1996): Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends Biotech. 14: 89-97.

Bolaños, J., G.O. Edmeades (1996): The importance of the anthesis-silking interval in breeding for drought tolerance in tropical maize. Field Crops Research 48: 65-80.

Borrás, L., M.E. Westgate, M.E. Otegui (2003): Control of kernel weight and kernel water relations by post-flowering source-sink ratio in maize. Annals of Botany 91: 857-867.

Borrás, L., G.A. Slafer, M.E. Otegui (2004): Seed dry weight response to source-sink manipulations in wheat, maize and soybean: a quantitative reappraisal. Field Crops Research 86: 131–146.

Borrás, L., M.E. Westgate, J.P. Astini, L. Echarte (2007): Coupling time to silking with plant growth rate in maize. Field Crops Res. 102: 73-85.

Borrell, A.K., G.L. Hammer. (2000): Nitrogen dynamics and the physiological basis of stay-green in sorghum. Crop Sci. 40: 1295-1307.

Borrell, A., G. Hammer, E. Oosterom (2001): Stay-green: A consequence of the balance between supply and demand for nitrogen during grain filling? Ann. Appl. Biol. 138: 91-95.

Brandolini, A.G. (1969): European races of maize. Book of Proceedings of the 24<sup>th</sup> Annual Corn and Sorghum Research Conference, Chicago, IL, USA, pp. 36-48.

Brevedan, R.E., D.B. Egli (2003): Short periods of water stress during seed filling, leaf senescence and yield of soybean. Crop Sci. 43: 2083-2088.

Brown, A.H.D., J.P. Grace, S.S. Speer (1987): Designation of a core collection of perennial *Glycine*. Soybean Genetics Newsletter 14: 59-70.

Brown, A.H.D. (1989a): The Case for Core Collections. In: The Use of Plant Genetic Resources, Brown, A.H.D., O.H. Frankel, D.R. Marshall and J.T. Williams (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 136-156.

Brown, A.H.D. (1989b): Core Collection: a practical approach to genetic resources management. *Genome* 31: 818-824.

Bruce W.B., G.O. Edmeades, T.C Barker (2002): Molecular and physiological approaches to maize improvement for drought tolerance. *Jour. Exp. Bot.*, 53: 13-25.

Caballero, J.I., C.V. Verduzco, J. Galan, E.S.D. Jimenez (2005): Proline accumulation as a symptom of drought stress in maize: A tissue differentiation requirement. *J. Exp. Bot.*, 39: 889-897.

Cairns, J.E., C. Sanchez, M. Vargas, R. Ordoñez, J. L. Araus (2012): Dissecting Maize Productivity: Ideotypes Associated with Grain Yield under Drought Stress and Well-watered Conditions. *Journal of Integrative Plant Biology* 54: 1007–1020

Çakir, R. (2004): Effect of water stress at different development stages on vegetative and reproductive growth of corn. *Field Crops Res.* 89: 1-16.

Campos, H., M. Copper, J.E. Habben, G.O. Edmeades, T. Barker (2004): Improving drought tolerance in maize: A view from industry. *Field Crops Research* 90: 19-34.

Castellanos, J.S., A.R. Hallauer, H.S. Cordova (1998): Relative performance of testers to identify elite lines of corn (*Zea Mays* L.). *Maydica* 43: 217-226.

Cavalli-Sforza, L.L., P. Menozzi, A. Piazza (1994): Phylogenetic analysis of America. In: The history and geography of human genes. Princeton University Press: 320-330.

Challinor, A.J., T.W. Wheeler, M. Slingo (2005): Simulation of the impact of high temperature stress on the yield of an annual crop. *Agric. For. Meteorol.* 135: 180-189.

Challinor, A.J., T.W. Wheeler, P.Q. Craufurd, C.A.T. Ferro, D.B. Stephenson (2007): Adaptation of crops to climate change through genotypic responses to mean and extreme temperatures. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119: 190-204.

Chambers K.G., E.S. MacAvoy (2000): Microsatellites: consensus and controversy. *Comp. Biochem. Physiol. (Part B)*. 126: 455-476.

Chaves, M.M., J.S. Pereira, J. Maroco, M.L. Rodrigues, C.P.P. Ricardo, M.L. Osorio, I. Carvatho, T. Faria, C. Pinheiro (2002): How plants cope with water stress in the field photosynthesis and growth? *Ann. Bot.*, 89: 907-916.

Chaves, M.M., J.P. Maroco, J. Pereira (2003): Understanding plant responses to drought - from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30: 239-264.

Chaves M.M., M.M. Oliveira (2004): Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture. *J. Exp. Bot.*, 55: 2365-2384.

Claussen, W. (2005): Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Sci* 168: 241-248.

Crafts-Brandner, S.J., F.E. Below, V.A. Wittenbach, J.E. Harper, R.H. Hageman (1984): Differential senescence of maize hybrids following ear removal. *Plant Physiol.* 74: 360-367.

Crossa, J., C.O. Gardner (1987): Introgression of an exotic germplasm for improving an adapted maize population. *Crop Sci.* 27: 187-190.

Crossa, J., S. Taba, E.J. Wellhausen (1990): Heterotic Patterns among Mexican Races of Maize. *Crop Science* 30: 1182-1190.

Csiszár, J., B. Pintér, Z. Kolbert, L. Erdei, I. Tari (2008): Peroxidase activities in root segments of wheat genotypes under osmotic stress. *Acta Biol Szegediensis* 52: 155-156.

Delauney, A.J., D.P.S. Verma (1993): Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant J.* 4: 215-223.

Demir, Y. (2000): Growth and proline content of germinating wheat genotypes under ultraviolet light. *Turk J Bot* 24: 67-70.

Dickau, R., A.J. Ranere, R.G. Cooke (2007): Starch grain evidence for the preceramic dispersals of maize and root crops into tropical dry and humid forests of Panama. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 3651-3656.

Dodig, D., V. Aleksić, P. Spasov, R. Petrović, R. Miletić (2002): Climate changes in eastern Serbia and their influence on plant production and ecosystem. *Proceedings of ICID International Conference on Drought Mitigation and Prevention of Land Desertification*. Bled, Slovenia, DOC8. pdf. CD Edition.

Doebley, J.A. (1996): Genetics and the Morphological Evolution of Maize. In: *The Maize Handbook*, edited by Michael Freeling and Virginia Walbot, pp. 66–77. New York: Springer-Verlag.

Duan, B., Y. Yang, Y. Lu, H. Korpelainen, F. Berninger, C. Li (2007): Interactions between drought stress, ABA and genotypes in *Picea asperata*. *J. Exp. Bot.*, 58: 3025-3036.

Dubreuil, P., A. Charcosset (2006): More on the introduction of temperate maize into Europe: large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica* 51: 281-291.

Eagles, H.A., J.E. Lothrop (1994): Highland maize from central Mexico: Its origin, characteristics, and use in breeding programs. *Crop Sci* 34: 11-19.

Edmeades G.O., J. Bolanos, M. Hernandez, S. Bello (1993): Causes for silk delay in a lowland tropical maize population. *Crop Science* 33: 1029-1035.

Edmeades, G.O., S.C Chapman, M Bänziger, H.R. Lafitte (1994): Recent evaluations of progress in selection for drought tolerance in tropical maize. In: Maize research for stress environments. Proceedings of the Fourth eastern and southern Africa regional maize conference. Harare, Zimbabwe: 94-100.

Edmeades, G.O., S.C Chapman, M Bänziger, J.A. Deutsch (1995): CIMMYT Maize drought tolerance network: 1995 Report. CIMMYT, El Bátan, México.

Edmeades, G.O., M.Bänziger, J.M. Ribaut (2000a): Maize improvement for drought-limited environments. In *Physiological Bases for Maize Improvement*, eds. M.E. Otegui and G.A. Slafer (New York, NY Howarth Press), 75-111.

Edmeades, G.O., J. Bolanos, A. Elings, J.M. Ribaut, M. Bänziger, M.E. Westgate (2000b): The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize. In *Physiology and Modeling Kernel Set in Maize*, eds. M.E. Westgate and K.J. Boote. Madison, WI: CSSA Special Publication No. 29: 43-73.

Edmeades, G.O., M. Cooper, R. Lafitte, C. Zinselmeier, J.M. Ribaut, J.E. Habben, C. Löffler, M. Bänziger (2001): Abiotic stresses and staple crops. Proceedings of the Third International Crop Science Congress, Hamburg, Germany, CABI Publishing: 137-154.

Ehleringer, J., R.W. Pearcy (1983): Variation in quantum yield for CO<sub>2</sub> uptake among C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> plants. *Plant Physiology* 73: 555-559.

Ellstrand, N.C., L.C. Garner, S. Hegde, R. Guadagnuolo, L. Blancas (2007): Spontaneous hybridization between maize and teosinte. *J. Hered.* 98: 183-187.

Eyhéabide, G.H., A.S. Gonzáles (1997): Interactions between testers and Argentine maize landraces. *Maydica* 42: 29-38.

FAOSTAT (2010): Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>

Fan, X.M., H.M. Chen, J. Tan, C.X. Xu, Y.D. Zhang, L.M. Luo, Y.X. Huang, M.S. Kang (2008): Combining abilities for yield and yield components in maize. *Maydica* 53: 39-46.

Farooq, S., F. Azam (2002): Molecular Markers in Plant Breeding-I: Concepts and Characterization. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 5: 1135-1140.

Farooq, M., A. Wahid, N. Kobayashi, D. Fujita, S.M.A. Basra (2009): Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron. Sustain. Dev.*, 29: 185-212.

Farsiani, A., M.E. Ghobadi (2009): Effects of PEG and NaCl stress on two cultivars of corn (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stages. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 57: 382-385.

Fazeli, F., M. Ghorbanli, V. Niknam (2007): Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biol Plant* 1: 98-103.

Finkelstein, R.R., S.I. Gibson (2001): ABA and sugar interactions regulating development: Cross-talk or voices in a crowd. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 5: 26-32.

Foyer, C., G. Noctor (2003): Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 119: 355-364.

Foyer, C.H., G. Noctor (2005): Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between perception and physiological responses. *Plant Cell* 17: 1866-1875.

Frankel, O.H. (1984): Genetic Perspectives of Germplasm Conservation. In: Genetic Manipulation: Impact on Man and society, W. Arber, K. Llimensee, W.J. Peacock and P. Starlinger (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, UK, 161-170.



Fry, S.C. (2004): Oxidative coupling of tyrosine and ferulic acid residues: intra- and extra-protoplasmic occurrence, predominance of trimers and larger products, and possible role in interpolymeric cross-linking. *Phytochem Rev* 3: 97-111.

Fukai, S., M. Cooper (1995): Development of drought resistant cultivars using Physio-morphological traits in rice. *Field Crops Res.* 40: 67-86.

Gallais, A., B. Hirel (2004): An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *J. Exp.Bot.* 55: 295-305.

Galinat, W.C. (1992): Maize: Gift from America's First Peoples. In *Chiles to Chocolate: Food the Americas Gave the World*, edited by Nelson Foster and Linda S. Cordell. Tucson: University of Arizona Press, 47-60.

Gaspar, T.C. Penel, F.J. Castillo, H. Greppin (1985): A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Physiol. Plant.* 64: 418-423.

Gauthier, P., B. Gouesnard, J. Dallard, R. Redaelli, C. Rebourg, A. Charcosset, A. Boyat (2002): RFLP diversity and relationships among traditional European maize populations. *Theor. Appl. Genet.* 105: 91-99.

Gentinetta, E., D. Cepl, C. Lepori, G. Perico, M. Motto, F. Salamini (1986): A major gene for delayed senescence in maize. pattern of photosynthates accumulation and inheritance. *Plant Breeding* 97: 193-203.

Goodman, M.M. (1990): Genetic and germplasm stocks worth conserving. *J. Hered.* 81: 11-16.

Gouesnard, B., J. Dallard, P. Bertin, A. Boyar, A. Charcosset (2005): European maize landraces: genetic diversity, core collection definition and methodology of use. *Maydica* 50: 225-234.

Grezesiak, M.T., I. Marcińska, F. Janowiak, A. Rzepka, T. Hura (2012): The relationships between seedling growth and grain yield under drought conditions in maize and triticale genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 1757-1764.

Gualdi, S., B. Rajkovic, V. Djurdjevic, S. Castellari, E. Scoccimarro, A. Navarra, M. Dacic (2008): "Simulations of climate change in the mediterranean Area", Final Scientific Report: <http://www.earth-prints.org/handle/2122/4675>

Gupta, P.K., R.K. Varshney, M. Prasad (2002): Molecular markers: principles and methodology. In S.M. Jain, D.S. Brar, B.S. Ahloowalia (eds.), *Molecular Techniques in Crop Improvement*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 9-54.

Hadži-Tašković Šukalović, V., M. Vuletić (1998): Properties of maize root mitochondria from plants grown on different nitrogen sources. *J Plant Physiology* 153: 67-73.

Hadži-Tašković Šukalović, V., M. Vuletić, Ž. Vučinić (2005): The role of p-coumaric acid in oxidative and peroxidative cycle of the ionically bound peroxidase of the maize root cell wall. *Plant Sci* 168: 931–938.

Hadži-Tašković Šukalović, V., B. Kukavica, M. Vuletić (2007): Hydroquinone peroxidase activity of maize root mitochondria. *Protoplasma* 231: 137-144.

Hallauer, A.R., J.B. Miranda Filho (1988): *Quantitative genetics in maize breeding*. 2nd edition. Iowa State University Press, Ames, pp. 468.

Hallauer, A.R., M.J. Carena (2009): Maize breeding. In: *Handbook of Plant Breeding: Cereals*. M.J. Carena (ed) Springer, New York, pp. 3-98.

Hanson, A.D., C.E. Nelson, A.R. Pedersen, E.H. Everson (1979): Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought resistance. *Crop Sci* 19: 489-493

Hare, P.D., W.A. Cress (1997): Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul* 21: 79-102.

Hastorf, C.A. (2009): Rio Balsas most likely region for maize domestication. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 4957–4958.

Hillel, D., C. Rosenzweig (2002): Desertification in relation to climate variability and change. *Adv. Agro.* 77: 1-38.

Hirel, B., J. Le Gouis, B. Ney, A. Gallais (2007): The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *J. Exp.Bot.* 58: 2369-2387.

Hoekstra, F.A., E.A. Golovina, J. Buitink (2001): Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends Plant Sci.* 6: 431-438.

Holland, J.B., S.J. Helland, N. Sharopova, D.C. Rhyne (2001): Polymorphism of PCR-based markers targeting exons, introns, promoter regions, and SSRs in maize and introns and repeat sequences in oat. *Genome* 44: 1065-1076.

Hsiao, T.C., L.K. Xu (2000): Sensitivity of growth of root versus leaves to water stress; biophysical analysis and relation to water transport. *J. Exp. Bot.* 51: 1595-1616.

Ignjatovic-Micic, D., S. Mladenovic Drinic, A. Nikolic, V. Lazic-Jancic (2008): SSR analysis for genetic structure and diversity determination of maize local populations from former Yugoslavia territories. *Russian Journal of Genetics* 44: 1317-1324.

IPPC (2007): Intergovernmental Panel on Climate Change. Working Group II: „Impacts, Adaptation and Vulnerability“. Fourth Assessment Report.

ISTA (2007): International rules for seed testing. Chapter 5 The Germination Test, 5A-31, International Seed Testing Association (ed), Bassersdorf, Switzerland

Jaccard, P. (1908): Nouvelles recherches sur la distribution floral. Bull. Soc. Vaudoise Sci. Nat. 44: 223-270.

Jaleel, C.A., B. Sankar, P.V. Murali, M. Gomathinayagam, G.M.A. Lakshmanan, R. Panneerselvam (2008): Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. Colloids Surf. B: Biointerfaces 62: 105-111.

Johnson, G.R., K.J. Frey (1967): Heritabilities of quantitative attributes of oats (*Avena* sp.) at varying levels of environmental stress. Crop Sci. 7: 43-49.

Jouili H, H. Bouazizi, E. El Ferjani (2011): Plant peroxidases: biomarkers of metallic stress. Acta Physiol Plant 33: 2075-2082.

Kamara, A.Y., A. Menkir, B. Badu-apraku, O. Ibikunle (2003): The influence of drought stress on growth, yield and yield components of selected maize genotypes. J. Agric. Sci. 141: 43-50.

Kardol, P., M.A. Cregger, C.E. Campany, A.T. Classen (2010): Soil ecosystem functioning under climate change: plant species and community effects. Ecology 91: 767-781.

Kavi Kishor, P.B., S. Sangam, R.N. Amrutha, P. Sri Laxmi, K.R. Naidu, K.R.S.S. Rao, K.J. Reddy, P. Theriappan, N. Sreenivaslu (2005): Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Curr Sci 88: 424-438.

Khayatnezhad, M., R. Gholamin, S.H. Jamaatie-Somarin, R. Zabihi-Mahmoodabad (2010): Effects of PEG stress on corn cultivars (*Zea mays* L.) at germination stage. World Appl. Sci. J. 11: 504-506.

Khodarahmpour, Z. (2011): Effect of drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) on germination indices in corn (*Zea mays* L.) hybrids. Afr. J. Biotechnol. 10: 18222-18227.

Kravić, N., K. Marković, V. Anđelković, V. Hadži-Tašković Šukalović, V. Babić, M. Vuletić (2013): Growth, proline accumulation and peroxidase activity in maize seedlings under osmotic stress. Acta Physiol Plant 35: 233-239.

Koch, K. (1996): Carbohydrate-modulated gene expression in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 47: 509-540.

Kumar, A., A. Rakshit, N.K. Mangillipelli, Y. Varalaxni, T. Vijayalanshmi, J.M. Vanaja, S.K. Yadav, B. Venkateswarlu, M. Maheswar (2012): Genetic diversity of maize genotypes on the basis of morpho-physiological and simple sequence repeat (SSR) markers. African Journal of Biotechnology 11: 16468-16477.

Landi, P. S. Salvi, M.C. Sanguineti, S. Stefanelli, R. Tuberosa (2002): Development and preliminary evaluation of near-isogenic maize lines differing for a QTL which affects leaf ABA concentration. Maize Genetics Cooperative Newsletter <http://www.agron.missouri.edu/mnl/76/7landi.html>

Larson, S. (2002): Plant Genotyping: The DNA Fingerprinting of Plants. R.J. Henry (ed.), CABI Publishing, Oxford. Book review. Heredity 88: 220

Lawlor, D.W., W. Tezara (2009): Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of mechanisms and integration of processes. Ann Bot 103: 561-579.

Lee, E.A., M. Tollenaar (2007): Physiological basis of successful breeding strategies for maize grain yield. *Crop Sci.* 47: 202-215.

Lonnquist, J.H. (1974): Consideration and experiences with recombinations of exotic and corn belt maize germplasm. *Proc. Annu. corn & sorghum Res. Conf.* 29: 102-117.

Lopes, M.S., J.L. Araus, P.D.R. van Heerden, C.H. Foyer (2011): Enhancing drought tolerance in C(4) crops. *J Exp Bot* 62: 3135-3153.

Lowlor, D.W., G. Cornic (2002): Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment* 25: 275-294.

Lowry, O.H., N.J. Rosebrogh, A.L. Farr, R.J. Randall (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 75–265.

Lu, H., R. Bernardo (2001): Molecular diversity among current and historical maize inbreds. *Theor. Appl. Genet.* 103: 613-617.

Ludlow, M.M., R.C. Muchow (1990): A critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv. Agron.* 43: 107-153.

Lutts, S., V. Majerus, J.M. Kinet (1999): NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings. *Physiol. Plant.* 105: 450-458.

Maksimović, J.D., V. Maksimović, B. Živanović, V. Hadži-Tašković Šukalović (2008): Peroxidase activity and phenolic compounds content in maize root and leaf apoplast, and their association with growth. *Plant Science* 175: 656-662.

Malosetti, M., T. Abadie (2001): Sampling strategy to develop a core collection of Uruguayan maize landraces based on morphological traits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 48: 381-390.

Mangelsdorf, P.C. (1986): The origin of corn. *Sci Am* 255:80-86.

Mantel, N. (1967): The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* 27:209-220.

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. (eds), *The use of plant genetic resources*, Cambridge University Press, 105-120.

Matysik, J.A., B. Bhalu, P. Mohanty (2002): Molecular mechanism of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Curr. Sci.* 82: 525-532.

Matsuoka, Y, Y. Vigouroux, M.M. Goodman, G.J. Sanchez, E. Buckler, J. Doeblry (2002): A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6080-6084.

McCully, M.E. (1995): How do real roots work? *Plant Physiol.* 109: 1-6.

McCully, M.E. (1999): Roots in soil: unearthing the complexities of roots and their rhizospheres. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 695-718.

Melchinger, A.E. (1999): Genetic diversity and heterosis. In: Coors, J.G., S. Pandey (eds). *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. ASA, CSSA and SSSA, Madison, XI.

Metcalf, S.E. (2006): Late Quaternary environments of the northern deserts and central transvolcanic belt of Mexico. *Ann Mo Bot Gard* 93: 258-273.

Michelini, L.A., A.R. Hallauer (1993): Evaluation of exotic and adapted maize (*Zea mays* L.) germplasm crosses. *Maydica* 38: 275-282.

Misevic, D. (1990): Genetic analysis of crosses among maize populations representing different heterotic patterns. *Crop Sci.* 30: 997-1001.

Mittler, R. (2002): Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.

Mittler, R. (2006): Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trend Plant Science* 11: 15-19.

Mohammadkhani, N., R. Heidari (2008a): Drought-induced Accumulation of Soluble Sugars and Proline in Two Maize Varieties. *World Applied Sciences Journal* 3: 448-453.

Mohammadkhani, N., R. Heidari (2008b): Water stress induced by polyethylene glycol 6000 and sodium chloride in two corn cultivars. *Pakistan J. Biol. Sci.* 11: 92-97.

Monneveux, P., J.M. Ribaut (2006): Secondary traits for drought tolerance improvement in cereals. In: *Drought Adaptation in Cereals*, ed. J.M. Ribaut (Binghamton, NY: The Haworth Press Inc.): 97-143.

Monneveux, P., C. Sanchez, A. Tiessen (2008): Future progress in drought tolerance in maize needs new secondary traits and combinations. *Journal of Agricultural Science* 146: 287-300.

Morell, M.K., S. Rahman, A. Regina, R. Appels, Z. Li (2001): Wheat starch biosynthesis. *Euphytica* 119: 55-58.

Nass, L.L., E. Paterniani (2000): Pre-breeding: a link between genetic resources and maize breeding. *Scientia Agricola* 57: 581-587.



Nayyar, H., D. Gupta (2006): Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environ Exp Bot* 58: 106-113.

Oaks, A. (1996): Transport of amino acids to the maize root. *Plant Physiol.* 41: 173-180.

Ogawa, A., A. Yamauchi (2006): Root osmotic adjustment under osmotic stress in maize seedlings: 1. Transient change of growth and water relations in roots in response to osmotic stress. *Plant Prod. Sci.* 9: 27-38.

Omidi, H. (2010): Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. *Am J Plant Physiol* 5: 338-349.

Ordás, A. (1991): Heterosis in crosses between American and Spanish populations of corn. *Crop Sci.* 31: 931-935.

Ortiz, R., S. Taba, V.H. Chávez Tovar, M. Mezzalama, Y. Xu, J. Yan, J.H. Crouch (2010): Conserving and Enhancing Maize Genetic Resources as Global Public Goods—A Perspective from CIMMYT. *Crop Science* 50: 13-28.

Parks, J.S. (1993). Genetic minimum distance for corn: an update from the ASTA corn variety identification subcommittee. In: *Annual Corn and Sorghum Research Conference 48 Proceedings*, Chicago-Washington: American Trade Association, pp. 16-29.

Piperno, D.R., A.J. Ranere, I. Holst, J. Iriarte, R. Dickau (2009): Starch grain and phytolith evidence for early ninth millennium B.P. maize from the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA* 106: 5019-5024.

Pohl, M.E., D.R. Piperno, K.O. Pope, J.G. Jones (2007): Microfossil evidence for preColumbian maize dispersals in the neotropics from San Andres, Tabasco, Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 6870–6875.

Polesskaya, O.G., E.I. Kashirina, N.D. Alekhina (2004): Changes in the activity of antioxidant enzymes in wheat leaves and roots as a function of nitrogen source and supply. *Russ J Plant Physiol* 51: 615-620.

Popović, T. (2007): Trend promena temperature vazduha i količine padavina na području Republike Srbije. Šume i promena klime, Šumarski fakultet, Beograd, 81-123.

Popović, T., M. Živković, E. Radulović (2008): "Srbija i globalno otopljavanje", I Konferencija Održivi razvoj i klimatske promene, 47-54.

Praba, M.L., J.E. Cairns, R.C. Babu, H.R. Lafitte (2009): Identification of physiological traits underlying cultivar differences in drought tolerance in rice and wheat. *J. Agron. Crop Sci.* 195: 30-46.

Prasad, P.V.V., K.J. Boote, L.H. Allen, Jr., J.M.G. Thomas (2002): Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Glob. Change Biol.* 8: 710-721.

Prasad, P.V.V., K.J. Boote, J.C.V. Vu, L.H. Allen, Jr. (2004): The carbohydrate metabolism enzymes sucrose-P synthase and ADG-pyrophosphorylase in phaseolus bean leaves are up-regulated at elevated growth carbon dioxide and temperature. *Plant Sci.* 166: 1565-1573.

Prasad, P.V.V., S.A. Staggenborg, Z. Ristic (2008): Impacts of drought and/or heat stress on physiological, developmental, growth, and yield processes of crop plants. In *Advances in agricultural systems modeling. Ser. 1.* ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. Pp. 1-55.

Price, A.H., J.E. Cairns, P. Horton, H.G. Jones, H. Griffiths (2002): Linking drought-resistance mechanisms to drought avoidance in upland rice using a QTL approach: progress and new opportunities to integrate stomatal and mesophyll responses. *J Exp Bot* 53: 989-1004.

Radovic, G., D. Jelovac (1995): Identification of the heterosis pattern in Yugoslav maize germplasm. *Maydica* 40: 223-227.

Rajcan, I, M. Tollenaar (1999a): Source: Sink ratio and leaf senescence in maize: I. dry matter accumulation and partitioning during grain filling. *Field Crops Res.* 60: 245-253.

Rajcan, I., M. Tollenaar (1999b): Source: Sink ratio and leaf senescence in maize: II. nitrogen metabolism during grain filling. *Field Crops Res.* 60: 255-265.

Rajendran, R.A., A.R. Muthiah, A. Manickam, P. Shanmugasundaram, A. John Joel (2011): Indices of drought tolerance in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) genotypes at early stages of plant growth. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.* 7: 42-46.

Ralph, J. (2010): Hydroxycinnamates in lignification. *Phytochem Rev* 9: 65-83.

Rao, I., G. Cramer. (2003): Plant nutrition and crop improvement in adverse soil conditions, p. 270-303. In: M. Chrispeels and D. Sadava (eds). *Plants, Genes, and Crop Biotechnology*. Published in partnership with the American Society of Plant Biologists and ASPB Education Foundation. Jones and Bartlett Publishers, Sudbury, MA, USA, pp. 270-303.

Rauf, S. (2008): Breeding sunflower (*Helianthus annuus* L.) for drought tolerance. *Communication in Biometry and Crop Science* 3: 29-44.

Rebourg, C., M. Chastanet, B. Gousnard, C. Welcker, P. Dubreuil, A. Charcosset (2003): Maize introduction into Europe: The history reviewed in the light of molecular data. *Theor Appl Gen* 106: 895-903.

Reddy, A.R., K.V. Chiatanya, M. Vivekanandan (2004): Draught induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol.* 161: 1189-1202.

Reif, J.C., A.R. Hallauer, A.E. Melchinger (2005a): Heterosis and heterotic patterns in maize. *Maydica* 50: 215-223.

Reif, J.C., A.E. Melchinger, M. Frish (2005b): Genetical and mathematical properties of similarity and dissimilarity coefficients applied in plant breeding and seed bank management. *Crop Sci.* 41: 1-7.

Ribaut, J.M., C. Jiang, D. González de León, G.O. Edmeades, D.A. Hoisington (1997): Identification of quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. 2. Yield components and marker-assisted selection strategies. *Theor. Appl. Genet.* 94: 887-896.

Ribaut, J.M., D.A. Hoisington, M. Bänziger, T.L. Setter, G.O. Edmeades (2004): Genetic dissection of drought tolerance in maize, A case study, 571-609, In H.T. Nguyen and A. Blum (eds). *Physiological and biotechnology integration for plant breeding*. Marcel Dekker Inc., New York.

Ribaut, J.M. (2006): *Drought Adaptation in Cereals*. The Hawthorn Press Inc. (ed.), Binghampton, NY, USA

Ribaut, J.M., J. Betran, P. Monneveux, T. Setter (2012): Drought tolerance in maize. In: Bennetzen, J.L., S.C. Hake (eds), New York: Springer. pp. 311-344.

Rizhysky, L., H. Liang, J. Shuman, V. Shulaev, S. Davletova, R. Mittler (2004): When defense pathways collide: The response of *Arabidopsis* to a combination of drought and heat stress. *Plant Physiol.* 134: 1683-1696.

Rohlf, F.J. (2000): *NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Version 2.0 Exeter Software, Setaket, NY

Rios-Gonzales, K., L. Erdei, S.H. Lips (2002): The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources. *Plant Sci* 162: 923-930.

Rosegrant, M.W., S. Msangi, C. Ringler, T.B. Sulser, T. Zhu, S.A. Cline (2008): International Model for Policy Analysis of Agricultural Commodities and Trade (IMPACT): Model Description. International Food Policy Research Institute: Washington, D.C. [www.ifpri.org/themes/impact/impactwater.pdf](http://www.ifpri.org/themes/impact/impactwater.pdf).

Ruta, N. (2008): Quantitative trait loci controlling root and shoot traits of maize under drought stress. Doctoral Dissertation, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland

Saghai-Marooif, M., K. Soliman, R. Jorgensen, R. Allard (1984): Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley; mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 91: 8014-8018.

Saini, H.S. (1997): Effects of water stress on male gametophyte development in plants. *Sexual Plant Reproduction* 10: 67-73.

Samaras, Y., R.A. Bressan, L.N. Csonka, M. Garcia-Rios, M. Paino D'Urzo, D. Rhodes (1995): Proline accumulation during water deficit. In: Smirnoff, N. (Ed.). *Environment and plant metabolism. Flexibility and acclimation*, Oxford: Bios Scientific Publishers

Sanchez, M., M.J. Pena, G. Revilla, I. Zarra (1996): Changes in dehydrodiferulic acids and peroxidase activity against ferulic acid associated with cell walls during growth of *Pinus pinaster* hypocotyls. *Plant Physiol* 111: 941-946.

Savin, R., M.E. Nicolas (1996): Effect of short episodes of drought and high temperature on grain growth and starch accumulation of two malting barley cultivars. *Aust. J. Plant Physiol.* 23: 201-210.

Schgiwietzke, S., Y. Kim, E. Ximenez, N. Mosier, M. Ladisch (2008): Ethanol production from maize. *Molecular Genetic Approaches to Maize Improvement* (book), part VI: 347-364.

Senior, M.L., J.P. Murphy, M.M. Goodman, C.W. Stuber (1998): Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *Crop Sci* 38: 1088-1098.

Serraj, R., T.R. Sinclair (2002): Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25: 333-341.

Setter, T.L., B.A. Flannigan, J. Melkonian. (2001): Loss of kernel set due to water deficit and shade in maize: carbohydrate supplies, abscisic acid, and cytokinins. *Crop Sci.* 41: 1530-1540.

Shao, H.B., Q.J. Guo, L.Y. Chu, X.N. Zhao, Z.L. Su, Y.C. Hu, J.F. Cheng (2007): Understanding molecular mechanism of higher plant plasticity under abiotic stress. *Biointerfaces* 54: 37-45.

Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel, P. Manivannan, R. Panneerselvam, M.A. Shao (2008): Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants - biotechnologically and sustainably improving agriculture and the ecoenvironmental in arid regions of the globe. *Critical Reviews in Biotechnology*, 29: 131-151.

Sharp, R.E., V. Poroyko, L.G. Hejlek, W.G. Spollen, G.K. Springer, H.J. Bohnert, H.T. Nguyen (2004): Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *J. Exp. Bot.* 55: 2343-2351.

Sheen, J., L. Zhou, J.C. Jang (1999): Sugars as signaling molecules. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2: 410-418.

Sinobas, J., I. Monteagudo (1996): heterotic patterns among U.S. Corn Belt and Spanish maize populations. *Maydica* 41: 143-148.

Smeeckens, S. (2000): Sugar-induced signal transduction in plants. *Ann. Rev. Plant Biol.* 51: 49-81.

Smirnoff, N., Q.J. Cumbes (1989): Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry* 28: 1057-1060.

Smirnoff, N. (1993): The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.*, 125: 27-58.

Smith J.S.C. (1987): Gene Markers and Their Uses in the Conservation, Evaluation and Utilization of Genetic Resources of Maize (*Zea mays* L.). International Training Session on Scientific Management of Gene Banks, Raleigh, N.C.

Smith, A.M., M. Stitt (2007): Coordination of carbon supply and plant growth. *Plant, Cell and Environment* 30: 1126-1149.

Sneath, P.H.A., R.R. Sokal (1973): Numerical taxonomy. W. H. Freeman and Company, San Francisco.

Soengas, P., B. Ordás, R.A. Malvar, P. Revilla, A. Ordás (2003): Performance of flint maize in crosses with testers from different heterotic groups. *Maydica* 48: 85-91.

Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannisa, A. Masia (2004): Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiol Plant* 121: 58-65.

Staub J.E., L.J. Kuhns, B. May, P. Grun (1982): Stability of potato tuber isozymes under different storage regimes. *J. Am. Sci.* 107:405-408.

Steudle, E. (2000): Water uptake by roots: effects of water deficit. *J. Exp. Bot.* 51: 1531-1542.

Sunnucks, P. (2000): Efficient genetic markers for population biology. *Trends Ecol. Evol.* 15: 199-203.

Szabados, L., A. Savouré (2010): Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Science* 15: 89-97.

Taba, S. (1997): Maize. In: Fuccillo D, Sears L, Stapleton P, editors. *Biodiversity in Trust, conservation and use of plant genetic resources in CGIAR Centers*. Cambridge Univ. Press, 213-226.

Taba, S., J. Diaz, J. Franco, J. Crossa (1998): Evaluation of Caribbean maize accessions to develop a core subset. *Crop Science* 38: 1378-1386.

Taba, S. (2005): Latin American Maize Germplasm Conservation: Regeneration, *In situ* Conservation, Core Collection, and Prebreeding: Proceedings of a Workshop held at CIMMYT, Mexico, D.F.

Tan, Y., Z.S. Liang, S. Hong Bo (2006): Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among 3 different genotypes of *Radix Astragali* at seeding stage. *Colloids Surf. B: Biointer.*, 49: 60-65.

Taramino, G., S. Tangey (1996): Simple sequence repeats for germplasm analysis and mapping in maize. *Genome* 39:277-287.

Teixeira, F.F., R.L. Gomide, P.E.P. Albuquerque, C.L. Teixeira de Andrade, C.E.P. Leite, S.N. Parentoni, P.E.O. Guimarães, L.J.M. Guimarães, A.R. Silva, E.A. Bastos, M.J. Cardoso (2010): Evaluation of maize core collection for drought tolerance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 10: 312-320.



- Thomas, H., C.J. Howarth (2000): Five ways to stay green. *J. Exp. Bot.* 51: 329-337.
- Tollenaar, M., T.B. Daynard (1978): Leaf senescence in short-season maize hybrids. *Can.J.Plant Sci* 58: 869-874.
- Torney, F., L. Moeller, A. Scarpa, K. Wang (2007): Genetic engineering approaches to improve bioethanol production from maize. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18: 193-199.
- Tracy, W.F., M.A. Chandler (2006): The historical and biological basis of the concept of heterotic patterns in corn belt dent maize. In: Lamkey, K.R., M. Lee, A.R. Hallauer (Eds) *Plant Breeding*, The A.R. Hallauer International Symposium, Blackwell, London, UK, pp 219-233.
- Trifunović, V. (1978): Maize production and Maize Breeding in Europe. In: D.B. Walden (ed.) *Maize Breeding and Genetics*, John Wiley and sons NY: 41-57.
- Tuberosa, R., M.C. Sanguineti, P. Landi, M.M. Giuliani, S. Salvi, S. Conti (2002): Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for grain yield in the field at two water regimes. *Plant Mol. Biol.* 48: 697-712.
- Valentovič, P., M. Luxová, L. Kolarovič, O Gašparíková. (2006): Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil Environ.* 52: 186-191.
- Vančetović, J., S. Mladenović Drinić, M. Babić, D. Ignjatović-Micić, V. Andjelković (2010): Maize genebank collections as potentially valuable breeding material. *Genetika* 42: 9-21.
- van Heerwaarden, J., J. Ross-Ibarra, J. Doebley, J.C. Glaubitz, J.J. Sánchez Gonzáles, B.S. Gauts, L.E. Eguiarte (2010): Fine scale genetic structure in the wild ancestor of maize (*Zea mays* ssp. *parviglumis*). *Mol Ecol* 19: 1162-1173.

van Heerwaarden, J., J. Doebley, W.H. Briggs, J.C. Glaubitz, M.M. Goodman, G.J.J. Sánchez Gonzáles, J. Ross-Ibarra (2011): Genetic signals of origin, spread and introgression in a large sample of maize landraces. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 1088-1092.

van Hintum, Th.J.L., A.H.D. Brown, C. Spillane, T. Hodgkin (2000): Core collections of plant genetic resources. IPGRI Technical Bulletin No. 3, (ed.) International Plant Genetic Resources Institute, Rome.

Vega, C.R.C., F.H. Andrade, V.O. Sadras (2001): Reproductive partitioning and seed set efficiency in soybean, sunflower and maize. *Field Crops Res.* 72: 163-175.

Verbruggen, N., C. Hermans (2008): Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35: 753-759.

Vuletić, M., V. Hadži-Tašković Šukalović, K. Marković, J. Dragišić Masimović (2010): Antioxidative system in maize roots as affected by osmotic stress and different nitrogen sources. *Biol Plant* 54: 530-534.

Wanous, S.P., F.R. Miller, D.T. Rosenov (1991): Evaluation of visual rating scales for green leaf retention in sorghum. *Crop Sci.* 31: 1691-1694.

[\(http://www.hidmet.gov.rs/\)](http://www.hidmet.gov.rs/)

Wardlaw, I.F. (2002): Interaction between drought and chronic high temperature during kernel filling in wheat in a controlled environment. *Annals of Botany* 90: 469-476.

Wellhausen, E.J. (1965): Exotic germplasm for improvement of corn belt maize. In: 20th Report of Hybrid Corn Industry-Research Conference. Chicago, IL, (Sutherland, J.I., ed.). American Seed Trade Association, Washington, DC: 31-45.

Westgate, M.E., D.L.T. Grant (1989): Water deficits and reproduction in maize. response of the reproductive tissue to water deficits at anthesis and mid-grain fill. *Plant Physiol.* 91: 862-867.

Westgate, M.E., M.E. Otegui, F.H. Andrade (2004): Physiology of the corn plant. In: *Corn: Origin, History, Technology, and Production.* (Eds. Smith, W.C., J. Betrán, E. Runge): 235-271.

Xia, X.C., J.C. Reif, A.E. Melchinger, M. Frisch, D. Hoisington, A. Beck, D.K. Pixley, M.L. Warburton (2005): Genetic Diversity among CIMMYT Maize inbred lines investigated with SSR markers: II. Subtropical, tropical midaltitude, and highland maize inbred lines and their relationships with elite U.S. and European maize. *Crop Sci.* 45: 2573-2582.

Xiong, L., R. Wang, G. Mao, J.M. Koczan (2006): Identification of Drought Tolerance Determinants by Genetic Analysis of Root Response to Drought Stress and Abscisic Acid. *Plant Physiology* 142: 1065-1074.

Xu, W., D.T. Rosenow, H.T. Nguyen (2000): Stay green trait in grain sorghum: relationship between visual rating and leaf chlorophyll concentration. *PlantBreed.* 119: 365-367.

Xu, S.X., J. Lin, G.S. Lin (2004): The use of SSRs for predicting the hybrid yield and yield heterosis in 15 key inbred lines of chinese maize. *Hereditas* 141: 207-215.

Yadav, S.K., N.J Lakshmi, M. Maheswari, M Vanaja, B. Venkateswarlu (2005): Influence of water deficit at vegetative, anthesis and grain filling stages on water relation and grain yield in sorghum. *Ind J Plant Physiol.* 10: 20-24.

Yang, J., J. Zhang, Z. Wang, Q. Zhu, L. Liu (2004): Activities of fructan- and sucrose-metabolizing enzymes in wheat stems subjected to water stress during grain filling. *Planta* 220: 331-343.

Yang, S.L., S.S. Lan, M. Gong (2009): Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *J Plant Physiol* 166: 1694-1699.

Yordanov, I., V. Velikova, T. Tsonev (2000): Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica* 38: 171-186.

Zambezi, B.T., E.S. Horner, F.G. Martin (1994): Inbred lines as testers for general and combining ability in maize. *Crop Sci.* 26: 908-910.

Zhang, W., Z. Zhao, G. Bai, F. Fu (2008): Study and evaluation of drought resistance of different genotype maize inbred lines. *Frontiers of Agriculture in China* 2: 428-434.

Zhao, T.J., S. Sun, Y. Liu, J.M. Liu, Q. Liu, Y.B. Yan, H.M. Zhou (2006): Regulating the drought-responsive element (DRE)-mediated signaling pathway by synergic functions of trans-active and transinactive DRE binding factors in *Brassica napus*. *J. Biol. Chem.* 281: 10752-10759.

Zinselmeier, C., M.E. Westgate, R.J. Jones (1995): Kernel set at low water potential does not vary with source / sink ratio in maize. *Crop Sci.* 35: 158-163.

Zinselmeier, C., B.R. Jeong, J.S. Boyer (1999): Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. *Plant Physiol.* 121: 25-36.

Zuber, M.S. (1968): Evaluation of corn root systems under various environments. *Proc. Ann. Corn Sorghum Ind. Res. Conf.* 23: 67-75.

## BIOGRAFIJA

Natalija Kravić je rođena 09.08.1969. godine u Zagrebu. U Zemunu je završila osnovnu i srednju školu. Diplomirala je 2002. godine na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, sa prosečnom ocenom 8,06 i ocenom 10 iz diplomskog rada pod nazivom "Delovanje nikosulfurona na rane faze razvića samooplodnih linija kukuruza". Kao stručni saradnik, od 2002. do 2006.godine, bila je angažovana na predmetu Biologija sa humanom genetikom Zavoda za Fiziologiju, Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Od 2006. godine radi u Institutu za kukuruz "Zemun Polje", prvo u svojstvu mlađeg istraživača, a od 2011, u svojstvu istraživača saradnika, u Grupi za kolekciju i introdukciju. Doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer „Genetika i oplemenjivanje ratarskih i povrtarskih biljaka“ je upisala školske 2006/2007. godine, a ispite predviđene programom za doktorske studije je položila sa prosečnom ocenom 9,2. Od 2006. do 2007. je bila učesnik na Projektu Ministarstva za nauku i zaštitu životne sredine TR-6827 pod nazivom: "Stvaranje i poboljšanje populacija i inbred linija kukuruza", a u periodu od 2008. do 2010. na Projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije TR 20014 pod nazivom "Identifikacija izvora tolerantnosti prema suši u gen banci kukuruza". U periodu od 2006-2009, bila je angažovana kao koordinator projekta Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije "Održavanje Nacionalne kolekcije u semenu i baze podataka o Nacionalnoj kolekciji". Član je SEEDNet (South Eastern European Development Network on Plant Genetic Resources ) radne grupe i zamenik koordinatora radne grupe za žitarice i kukuruz. Rezultate svojih istraživanja objavila je u 6 naučnih radova publikovanih u domaćim i međunarodnim časopisima, i u preko 20 naučnih saopštenja. Govori engleski jezik.

**Прилог 1.**

**Изјава о ауторству**

Потписани-а Наталија Кравић

Број индекса или пријаве докторске дисертације 06/13

**Изјављујем**

да је докторска дисертација под насловом:

“Анализа генетичке варијабилности кукуруза на толерантност према суши”

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

**Потпис докторанда**

У Београду, 8.2.2013.

Наталија Кравић

**Прилог 2.**

**Изјава о истоветности штампане и електронске  
верзије докторске дисертације**

Име и презиме аутора Наталија Кравић

Број индекса или пријаве докторске дисертације 06/13

Студијски програм Ратарство и повртарство

Наслов докторске дисертације “Анализа генетичке варијабилности кукуруза на  
толерантност према суши”

Ментор проф др Гордана Шурлан Момировић

Потписани/а Наталија Кравић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, 8.2.2013.

Наталија Кравић

### Прилог 3.

#### Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

“Анализа генетичке варијабилности кукуруза на толерантност према суши”

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално - без прераде
4. Ауторство – некомерцијално - делити под истим условима
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

У Београду, 8.2.2013.

Потпис докторанда

Наталија Крковић



**1. Ауторство** - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

**2. Ауторство** – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

**3. Ауторство** - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

**4. Ауторство** - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

**5. Ауторство** – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

**6. Ауторство** - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.