

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

SOFIJA S. BOŽINOVIĆ

**UTICAJ CITOPLAZMATIČNE MUŠKE
STERILNOSTI I KSENIJA NA PRINOS ZRNA
I AGRONOMSKE OSOBINE KUKRUZA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Beograd, 2013.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

SOFIJA S. BOŽINOVIC

**IMPACT OF CYTOPLASMIC MALE
STERILITY AND XENIA ON GRAIN YIELD
AND AGRONOMIC TRAITS OF MAIZE**

DOCTORAL DISSERTATION

Belgrade, 2013.

MENTOR:

Dr Slaven Prodanović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

ČLANOVI KOMISIJE:

Dr Jelena Vančetović, naučni savetnik

Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd

Dr Gordana Šurlan-Momirović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

Dr Dragana Ignjatović-Micić, naučni savetnik

Institut za kukuruz "Zemun Polje", Beograd

Dr Tomislav Živanović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Poljoprivredni fakultet

DATUM ODBRANE:

Zahvalnica

Hvala Institutu za kukuruz "Zemun Pošje" na tome što mi je omogućio izradu ove disertacije.

Zahvaljujem se iskreno svom mentoru prof. Dr Slavenu Prodanoviću na svesrđnoj pomoći, savetima, predlozima i idejama koje su uobličile disertaciju i omogućile njen usavršavanje.

Od srca se zahvaljujem svojoj šefici Dr Jeleni Vančetović na ogromnom znanju, stručnosti, kreativnosti, savetima, podršci i svemu ostalom što me je oblikovalo u mom istraživačkom radu i omogućilo izradu disertacije.

Veliku zahvalnost dugujem i Dr Dragani Ignjatović-Micić na strpljenju, stručnim i drugim savetima, pozitivnoj energiji i kolegijačnosti, koje je delila sa mnom.

Zahvaljujem se i prof. dr. Gordani Šurlan-Momirović na velikoj podršci prilikom doktorskih studija i tokom izrade disertacije.

Želim da se zahvalim Dr Jeleni Lević i Dr Slavici Stanković na dragocenim stručnim savetima, kao i čitavoj Laboratoriji za fitopatologiju Instituta za kukuruz "Zemun Pošje" za odrađenu analizu zdravstvenog stanja semena.

Hvala Dr Dejanu Dodigu na savetima u vezi sa statističkom obradom podataka.

Bez Laboratorije za biotehnologiju ne bih uspela da uradim molekularnu analizu genotipova, zato od srca hvala Dr Ani Nikolić, dipl. inž. Danijeli Ristić i dipl. inž. Mariji Kostadinović na učestovovanju u izradi ovog dela disertacije.

Hvala mojim dragim kolegama: dipl. ing. Jovanu Pavlovu, dipl. inž. Nikoli Grčiću, dipl. inž. Zoranu Čamđiji, dipl. inž. Milanu Stevanoviću, dipl. inž. Milošu Crevaru i dipl. inž. Vesni Kandić koji su mi takođe, pomogli u izradi ove disertacije.

Hvala celoj mojoj istraživačkoj grupi: Staniji Mladenović, Milki Pejić, Snežani Veselinović, Miliđani Kaličanin i Mileni Petrović na organizacionoj, tehničkoj, moralnoj i emotivnoj podršci, bez njih ne bih uspela.

Zahvaljujem se od srca svim svojim prijateljima, oni su moja kuća.

Hvala Žokiju za podršku, strpljenje, toleranciju, savete, muziku i ogromnu ljubav - "the pleasure, the privilege is mine".

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj porodici: mami Milosavi, tati Savi i bratu Bojanu, da nema njih nema bilo ni mene. Njima i posvećujem ovu disertaciju.

Ovo istraživanje je finansirano od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije preko projekta TR20017 "Uticaj citoplazmatske muške sterilitosti i ksenija na prinos zrna i agronomskе osobine kukuruza".

UTICAJ CITOPLAZMATIČNE MUŠKE STERILNOSTI I KSENIJA NA PRINOS ZRNA I AGRONOMSKE OSOBINE KUKURUZA

Rezime

Citoplazmatična muška sterilnost (CMS) odavno se koristi u proizvodnji hibridnog semena kukuruza, jer povećava kvalitet, a pritom smanjuje troškove proizvodnje. Ksenija predstavlja efekat stranog oprasivača na zrno majčinskog genotipa u godini oprasivanja. Kombinovani uticaj CMS i ksenija nazvan je Plus-hibrid efekat, a ideja je da se u smeši gaji 80% sterilnog hibrida kao majke i 20% drugog fertilnog hibrida, kao oca. Mnogi autori su dobili značajno povećanje prinosa u ovakovom sistemu proizvodnje, bez pogoršanja kvaliteta zrna.

Cilj istraživanja bio je da se u našim uslovima i na domaćim hibridima ispita pojedinačni i kombinovani uticaj citoplazmatične muške sterilnosti i ksenija na najvažnije osobine kukuruza i mogućnost uvođenja ovakvog sistema gajenja u komercijalnu proizvodnju u Srbiji.

Ogled je bio postavljen po potpuno slučajnom blok (RCB) split-split plot eksperimentalnom dizajnu u tri ponavljanja u Zemun Polju od 2009. do 2011. godine. Kao majke su se koristili sterilne (CMS-S tip) i fertilne verzije hibrida ZP 1 i ZP 2, dok su očevi bili hibridi ZP 1ft, ZP 2ft, ZP 3ft, ZP 4ft i ZP 5ft. Ispitan je pojedinačni, kao i kombinovani uticaj CMS i ksenija na najbitnije osobine kukuruza. Takođe, pomoću SSR markera utvrđena je genetička distanca između korišćenih genotipova, da bi se našla veza između distance i efekta ksenija u Plus-hibrid kombinaciji.

Samo kod jednog CMS hibrida, ZP 2st, je došlo do neznačajnog povećanja prinosa zrna (0,45 t/ha), kod kog je došlo i do značajnog povećanja težine zrna i broja zrna po jedinici površine. Slab odgovor genotipova na sterilnost objašnjava se time što je korišćen CMS-S tip, kod koga pozitivan efekat sterilnosti ne dolazi do izražaja kao kod ostala dva tipa. CMS je uticala na značajno povećanje sadržaja ulja u zrnu kod ZP 2 (0,21%). Infekcija zrna sa *Fusarium verticillioides* bila je veća kod oba sterilna hibrida, dok je sadržaj mikotoksinsa specifičnog za ovu vrstu gljive,

fumonizina B₁ (FB₁), u zrnu kod ZP 1st bio značajno niži, a kod ZP 2st neznačajno viši nego kod fertilnog analoga.

Ksenije nisu značajno uticale na povećanje prinosa zrna. ZP 5ft je slabo značajno smanjio prinos zrna kod ZP 1ft. Neki od oprašivača su uticali na povećanje mase hiljadu zrna, kao i broja zrna po m². Ksenije su značajno uticale na povećanje sadržaja ulja u zrnu ZP 2ft (od 0,14% do 0,26%). Neizogeno oprašivanje je značajno negativno uticalo na zaraženost zrna sa vrstom *F. verticillioides*, kao i sadržaj FB₁.

Plus-hibrid efekat je na većinu osobina ZP 2 hibrida bio intenzivniji i pozitivniji nego na ZP 1, što ukazuje na značajan majčinski uticaj na njegovo ispoljavanje. Četiri od osam Plus-hibrid kombinacija imalo je povišen prinos, ali ne značajno, a najbolja kombinacija bila je ZP 2st × ZP 4ft - imala je neznačajno viši prinos (>0,3t/ha), masu zrna i broj zrna po jedinici površine, kao i značajno povećanje sadržaja ulja u zrnu (0,21%). Kod svih Plus-hibrid kombinacija dolazi do povećanja stepena zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* i akumulacije specifičnog mikotoksina. Zaključak je da se kombinovani efekat CMS i ksenija ne može dobiti jednostavnim sabiranjem uticaja ova dva faktora posebno, već je Plus-hibrid efekat na najbitnije osobine rezultat međusobnih interakcija velikog broja faktora.

Genetička distanca nije u vezi sa dobiti od ksenija u Plus-hibridu, i povećanjem distance između korišćenih genotipova ne povećava se korist od ksenija.

Ključne reči: citoplazmatična muška sterilnost, ksenija, kukuruz, Plus-hibrid efekat, polinator

Naučna oblast: BIOTEHNIČKE NAUKE

Uža naučna oblast: RATARSTVO I POVRTARSTVO

UDK:631.528.6:633.15

IMPACT OF CYTOPLASMIC MALE STERILITY AND XENIA ON GRAIN YIELD AND AGRONOMIC TRAITS OF MAIZE

Summary

Because it increases quality and reduces costs at the same time, cytoplasmic male sterility (CMS) has been used in maize hybrid seed production since long ago. Xenia is the effect of foreign pollinator on the kernel of maternal genotype in the year of crossing. The combined effect of CMS and xenia is referred to as a Plus-hybrid effect and the idea is to grow in mixture 80% of one sterile hybrid as mother and 20% of the other fertile hybrid as father. Many authors got significant increase in grain yield in this production system, without grain quality deterioration.

The aim of the research was to examine individual and combined effect of cytoplasmic male sterility and xenia on the most important maize traits of domestic hybrids, in our environment, as well as the possibility of introduction of this kind of growing system in the commercial production in Serbia.

The three-replicate trial was carried out according to randomized complete block (RCB) split-split plot design in Zemun Polje during 2009, 2010 i 2011. Sterile (CMS-S type) and fertile versions of ZP 1 and ZP 2 hybrids were used as mothers, while ZP 1ft, ZP 2ft, ZP 3ft, ZP 4ft and ZP 5ft hybrids were fathers. Individual and combined effects of CMS and xenia on the most important maize traits were examined. Also, genetic distance between used genotypes was determined using SSR markers, to find the relationship between distance and xenia effect in a Plus-hybrid combination.

Only one CMS hybrid, ZP 2st, had insignificant increase in grain yield (0,45 t/ha), and at the same time significant increase in kernel weight and kernel number per unit area. Weak response of the genotypes to sterility is explained with the use of CMS-S type, in which positive effect of sterility doesn't come to the fore as in the other two types. CMS had significant impact on kernel oil content increase in ZP 2 (0,21%). Kernel infection with *Fusarium verticillioides* was higher for both sterile hybrids, while kernel content of mycotoxin fumonisin B₁, specific for this

fungi species, in ZP 1st was significantly lower, and in ZP 2st insignificantly higher than in fertile analogue.

Xenia did not have significant impact on grain yield increase. ZP 5ft weakly significantly decreased grain yield in ZP 1ft. Some pollinators had impact on thousand kernel weight increase, as well as kernel number per m². Xenia had significant impact on kernel oil content increase in ZP 2ft (from 0,14% to 0,26%). Nonisogenic pollination had significantly negative impact on kernel contamination with *F. verticillioides* species, as well as FB₁ content.

Plus-hybrid effect on most of the ZP 2 hybrid traits was more intense and more positive than for ZP 1, which indicates significant maternal influence on its' expression. Four out of eight Plus-hybrid combinations had increased grain yield, but not significantly, and the best combination was ZP 2st × ZP 4ft - it had insignificantly higher grain yield (>0,3 t/ha), kernel weight and number of kernel per unit area, as well as significant kernel oil content increase (0,21%). In all Plus-hybrid combinations there is an increase in the degree of kernel infection with *F. verticillioides* and specific mycotoxin accumulation. The conclusion is that the combined effect of CMS and xenia cannot be obtained by simple summing of these two factors' impacts separately, but Plus-hybrid effect on the most important traits is the result of mutual interaction of the great number of factors.

Genetic distance is not related to the benefit of xenia in Plus-hybrid, and increasing the distance between used genotypes does not increase xenia benefit.

Key words: cytoplasmic male sterility, xenia, maize, Plus-hybrid effect, pollinator

Scientific field: BIOTECHNICAL SCIENCES

Specific scientific field: FIELD AND VEGETABLE CROPS

UDK: 631.528.6:633.15

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
<i>2.1. HETEROZIS I HIBRIDNO POTOMSTVO KOD KUKURUZA</i>	<i>4</i>
<i>2.2. CITOPLAZMATIČNA MUŠKA STERILNOST</i>	<i>6</i>
<i>2.3. KSENIJA – NEPOSREDNI EFEKAT STRANOG OPRAŠIVAČA NA ZRNO</i>	<i>14</i>
<i>2.4. PLUS-HIBRID EFEKAT – KOMBINOVANI EFEKAT CITOPLAZMATIČNE MUŠKE STERILNOSTI I KSENIJA</i>	<i>16</i>
3. RADNA HIPOTEZA	21
4. MATERIJAL I METOD RADA	22
<i>4.1. BILJNI MATERIJAL I DIZAJN EKSPERIMENTA U POLJU</i>	<i>22</i>
<i>4.2. ISPITIVANE OSOBINE I STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA</i>	<i>24</i>
<i>4.2.1. Ispitivane osobine u eksperimentu</i>	<i>24</i>
<i>4.2.2. Statistička analiza dobijenih podataka</i>	<i>26</i>
<i>4.3. ANALIZA GENETIČKE DISTANCE IZMEDU GENOTIPOVA</i>	<i>27</i>
<i>4.4. RAČUNANJE EFEKATA U EKSPERIMENTU</i>	<i>30</i>
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	32
<i>5.1. POUZDANOST EKSPERIMENTA, KONTROLA POLINACIJE I SINHRONIZACIJA CVETANJA MAJČINSKOG I OČINSKOG HIBRIDA – ASI</i>	<i>32</i>
<i>5.2. EFEKAT CMS NA ISPITIVANE OSOBINE</i>	<i>33</i>
<i>5.2.1. Efekat CMS na visinu klipa, polegle i slomljene biljke i udeo vlage u zrnu u berbi</i>	<i>33</i>
<i>5.2.2. Efekat CMS na prinos i komponente prinosa zrna</i>	<i>36</i>
<i>5.2.3. Efekat CMS na hemijski sastav zrna</i>	<i>39</i>
<i>5.2.4. Efekat CMS na infekciju zrna sa <i>F. verticillioides</i> i koncentraciju fumonizina B1 u zrnu</i>	<i>42</i>
<i>5.3. EFEKAT KSENIJA NA ISPITIVANE OSOBINE</i>	<i>44</i>
<i>5.3.1. Efekat ksenija na vlagu zrna u berbi, prinos i komponente prinosa</i>	<i>44</i>

<i>5.3.2. Efekat ksenija na hemijski sastav zrna</i>	45
<i>5.3.3. Efekat ksenija na infekciju zrna sa <i>F. verticilliodes</i> i koncentraciju fumonizina <i>B₁</i> u zrnu</i>	46
<i>5.3.4. Razlika u efektu ksenija na ispitivane osobine zrna između sterilnih i fertilnih verzija ZP 1 i ZP 2</i>	47
5.4. PLUS-HIBRID EFEKAT NA ISPITIVANE OSOBINE	49
<i>5.4.1. Plus-hibrid efekat na sadržaj vlage u zrnu, prinos i komponente prinosa zrna</i>	49
<i>5.4.2. Plus-hibrid efekat na hemijski sastav zrna</i>	52
<i>5.4.3. Plus-hibrid efekat na infekciju zrna sa <i>F. verticilliodes</i> i koncentraciju fumonizina <i>B₁</i> u zrnu</i>	55
5.5. OPŠTE POLINATORSKE SPOSOBNOSTI OČINSKIH GENOTIPOVA	57
5.6. GENETIČKA DISTANCA IZMEĐU GENOTIPOVA	60
6. DISKUSIJA	64
7. ZAKLJUČAK	79
8. LITERATURA	82



1. UVOD

Kukuruz (*Zea mays* L.) je jedna od najvažnijih gajenih biljnih vrsta u svetu, kako zbog svog visokog prinosa, tako i zbog mogućnosti raznovrsne upotrebe u ljudskoj i životinjskoj ishrani i industriji. U 2010. godini kukuruz je po površini na kojoj se gaji u svetu bio na drugom mestu, iza pšenice, međutim, po proizvodnji po hektaru, kao i ukupnoj proizvodnji, kukuruz je na prvom mestu, ispred pšenice i pirinča. U Srbiji je njegov značaj takođe veliki: sa više od milion hektara oraničnih površina koje zauzima najzastupljenija je gajena biljna vrsta u našoj zemlji.

Citoplazmatična muška sterilnost (CMS) odnosi se na nemogućnost biljke da proizvodi funkcionalan polen. Ova osobina uslovljena je mutacijama u mitohondrijalnom genomu, pa se zato prenosi samo preko citoplazme, tj. ne prenosi se polenom i ne podleže Mendelovom načinu nasleđivanja. CMS je našla svoju primenu u proizvodnji hibridnog semena kukuruza, jer kod hibrida čija se semenska proizvodnja bazira na sterilnosti nije neophodno zakidati metlice na samooplodnim linijama majke. Samim tim, proizvodnja je jeftinija, kvalitetnija i manje zahtevna od konvencionalne. Postoje tri tipa citoplazmatične muške sterilnosti kod kukuruza, od kojih se danas koriste samo dva, CMS-S i CMS-C, dok je CMS-T tip napušten usled osetljivosti na bolest specifičnu za ovaj tip citoplazmatične sterilnosti. Povraćaj fertilitati kod CMS biljaka vrši se pod dejstvom jedarnih gena, tzv. restorera fertilitati, pa se može reći da je ovaj tip sterilnosti uslovjen interakcijom između gena u jedarnoj i mitohondrijalnoj DNK. Hibridi kukuruza koji se proizvode na sterilnoj osnovi dobijaju se ukrštanjem majčinske komponente, koja ima sterilnu citoplazmu, i očinske koja u jedarnom genomu ima gene restorere za taj tip sterilnosti, kako bi se u F1 generaciji, tj. hibridu povratila muška fertilnost.

Uporedno sa uvođenjem ovakvog sistema u hibridnu proizvodnju, počelo se i sa proučavanjem uticaja CMS-a na osobine genotipova kukuruza. Veliki broj nezavisnih istraživanja ukazao je na pozitivan efekat koji citoplazmatična muška sterilnost ima na prinos zrna kukuruza, posebno u nepovoljnim uslovima suše, deficita vode i hranljivih materija. Ovo se objašnjava time što biljka deo hranljivih materija i energije koje bi potrošila na proizvodnju polena usmerava na povećanje



prinosa zrna, dok u nepovoljnim uslovima ograničene količine hranljivih materija ne mora da troši na proizvodnju polena.

Ksenija predstavlja uticaj stranog oprasivača na biljke majke u godini oprasivanja. Polovina embriona i trećina endosperma zrna kukuruza vodi poreklo od oca. S obzirom na to da kod kukuruza embrion čini 11%, a endosperm 83% suve težine zrna, udeo polinatora u tkivu zrna majke nije zanemarljiv. S druge strane, pri klasičnom gajenju dvolinijskih hibrida, proizvedena zrna na biljkama F1 generacije u stvari su F2 zrna, kod kojih već dolazi do izražaja inbriding depresija. U ovom slučaju, stranooplodnja nekim drugim hibridom povećava heterozigotnost zrna, što najverovatnije utiče i na povećanje prinosa. Proizvođači često samoinicijativno mešaju različite hibride u komercijalnoj proizvodnji i na taj način nesvesno iskorištavaju ovaj efekat. Pozitivan uticaj ksenija već se koristi u praksi primenom TopCross sistema (patentiran od strane firme DuPont Specialty Grains, Des Moines, Iowa, USA) u proizvodnji visokouljanih hibrida. U smeši se gaji sterilni hibrid i visokouljani oprasivač kako bi se dobio visokoprinosan hibrid sa povećanim sadržajem ulja u zrnu.

Početkom XXI veka kombinovani efekat citoplazmatične muške sterilnosti i ksenija na najvažnije agronomске osobine kukuruza je postao predmet istraživanja. Naime, ispitivani su sterilni hibridi kao majke i fertilni hibridi kao očevi, a ideja je bila da se u smeši u komercijalnoj proizvodnji gaji 80% sterilnog i 20% fertilnog hibrida, kako bi se iskoristio kombinovani pozitivni efekat. Sterilni hibrid bi bio nosilac visokog prinosa, dok bi fertilni hibrid oprasivač prvenstveno uticao na povišen kvalitet zrna, mada je utvrđen i pozitivan uticaj ksenija na apsolutnu masu zrna. Ovakav kombinovani efekat nazvan je Plus-hibrid efekat. Ovaj sistem proizvodnje u praksi može dovesti do povećanja prinosa zrna kukuruza pri gajenju u optimalnim uslovima sredine, a sprečiti gubitak prinosa u lošijim uslovima sredine. Takođe, gajenje komercijalnih useva na ovaj način može sprečiti kontaminaciju genetski modifikovanim (GMO) polenom, u slučaju da je sterilni hibrid genetički modifikovan. Uzimajući u obzir da proizvodnja sterilnog nije ništa komplikovanija od proizvodnje fertilnog hibrida, predloženi sistem proizvodnje može biti jednostavan odgovor na stalne zahteve za povećanjem prinosa kukuruza, bez povećanja površine pod kojom se gaji.



2. PREGLED LITERATURE

Kukuruz (*Zea mays* L.) spada u najvažnije gajene biljne vrste na svetu. Površine pod kukuruzom na globalnom nivou, kao i prinos, imaju trend stalnog rasta, pa je on trenutno na prvom mestu po ukupnoj proizvodnji, ispred pšenice i pirinča (Tabela 1, FAOSTAT 2010).

Tabela 1. Kretanje proizvodnje i površina pod kojima se gaje kukuruz, pirinač i pšenica u poslednjih četrdeset godina

Element	Usev	1970	1980	1990	2000	2010
Površina (000 ha)	kukuruz	113076	125776	131321	137005	161765
	pirinač	132873	144412	146960	154060	159417
	pšenica	207979	237252	231263	215437	217219
Proizvodnja (t/ha)	kukuruz	2350,9	3153,4	3680,8	4324,5	5194,6
	pirinač	2380,8	2748,2	3528,6	3890,4	4368
	pšenica	1494,1	1855,4	2561,2	2718,6	3009,2
Ukupna proizvodnja (000 t)	kukuruz	265831	396623	483373	592479	840308
	pirinač	316346	396871	518568	599355	696324
	pšenica	310741	440188	592311	585690	653655

Od domestifikacije prinos kukuruza se konstantno povećavao (Doebley, 2004). Sa revolucijom u genetici i oplemenjivanju gajenje kukuruza se promenilo, pa se tako u SAD uvođenjem *double-cross* hibrida umesto slobodno opršavajućih populacija 1920ih, a zatim i uvođenjem *single-cross* hibrida 1960ih godina prinos konstatno i eksponencijalno povećavao (Crow, 1998; Troyer, 2004). Najveći proizvodači kukuruza u svetu su SAD, Kina i Brazil (37,62%, 21,13% i 6,59% od ukupne svetske proizvodnje). Gotovo da se čitava nadzemna biomasa kukuruza može iskoristiti u različite svrhe, što doprinosi ovakvom trendu iz decenije u deceniju. Međutim, potrebe u svetu za kukuruzom, koje stalno rastu, prevazilaze



proizvodnju ove biljne vrste, što dovodi do značajnog smanjenja svetskih zaliha, pa se predviđa da će u odnosu na kraj XX veka potražnja za kukuruzom u 2020 porasti za 138%. U razvijenim zemljama, kukuruz se primarno koristi za ishranu životinja (78% od ukupne svetske proizvodnje), pa zatim za proizvodnju prehrambenih i industrijskih proizvoda, kao što su skrob, ulje, zaslađivači i alkohol. Takođe korišćenje kukuruza za proizvodnju bioetanola dobija sve više na značaju (Ragauskas i sar., 2006; Farrell i sar., 2006). U nerazvijenim i zemljama u razvoju kukuruz ima primarnu upotrebu u ljudskoj ishrani, gde se predviđa i porast potražnje za ovom žitaricom od 1.3% na globalnom nivou do 2020. upravo za ovu namenu (Ortiz i sar., 2010).

Srbija je jedan od bitnijih proizvođača kukuruza, kako u Evropi, tako i u svetu. Prema FAO podacima iz 2010. godine, kukuruz je u Srbiji zauzimao površinu od 1,22 miliona ha, sa prosečnim prinosom od 5,89 t/ha i ukupnom proizvodnjom od 7207190 tona. Kukuruz je takođe i glavni izvozni proizvod srpske poljoprivrede i 2010. godine izvezeno je više od 1600000 tona. Najviše se izvozi u Rumuniju, Bosnu i Hercegovinu, Holandiju, Italiju, Albaniju, Makedoniju, Veliku Britaniju, Grčku, Crnu Goru. U našoj zemlji kukuruz se najvećim delom iskorištava u ishrani životinja, dok se ostatak koristi u ljudskoj ishrani i proizvodnji skroba.

Skoro sav kukuruz koji se gaji u industrijalizovanim zemljama je poreklom od hibridnog semena, dok su slobodno opršujuće populacije i dalje zastupljene u većini zemalja u razvoju (Byerlee i Lopez-Pereira, 1994).

2.1. HETEROZIS I HIBRIDNO POTOMSTVO KOD KUKURUZA

Heterozis ili hibridna bujnost odnosi se na fenomen u kome hibridno F1 potomstvo pokazuje superiornost u odnosu na prosek oba roditelja (*mid-parent heterosis*) ili u odnosu na boljeg roditelja (*better parent heterosis*). Ovaj fenomen prepoznat je u oplemenjivanju kukuruza pre skoro jednog veka, kako bi kasnije bio pronađen u velikom broju gajenih biljnih vrsta (Shull, 1908; East, 1908; Duvick, 2001). Značaj heterozisa u poljoprivredi se odražava u dramatičnom povećanju prinosa mereno od uvođenja hibrida u komercijalnu proizvodnju 1930ih u Americi i 1950ih u Evropi (Duvick, 1999; Duvick, 2001). Utvrđeno je da heterozis kod

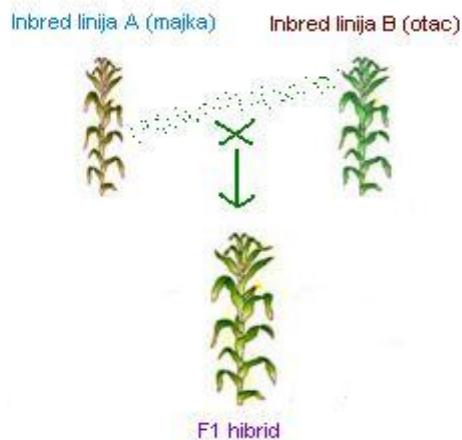


kukuruza povećava prinos bar za 15%, što u kombinaciji sa adekvatnom agrotehnikom rezultuje u sigurnom poboljšanju performansa (Duvick, 2001). Pred kraj prošlog veka utvrđeno je da se 65% proizvodnje kukuruza u svetu zasniva na hibridima (Duvick, 1999), a poboljšanje prinosa je od 15–50%. Iako se heterozis kao fenomen proučava intenzivno više od jednog veka, osnovni mehanizmi koji izazivaju ili doprinose heterozisu i dalje su nejasni (Coors i Pandey, 1999; Troyer, 2006; Hallauer, 2007).

Sve prethodno pomenuto objašnjava potrebu za radom na stvaranju hibrida kukuruza, a samim tim i razvoju semenske proizvodnje. Naime, dok su se u komercijalnoj proizvodnji koristile slobodno oprasujuće sorte (populacije) nije bilo potrebe za semenskom proizvodnjom. Hibridno seme nastaje ukrštanjem dve ili više samooplodnih linija (genotipovi kukuruza koji nastaju samooplodnjom kroz bar 7 generacija i homozigotne su na većini lokusa), koje će u F1 generaciji pokazati hibridnu bujnost. Dakle, F1 generacija mora biti genetički uniformna, a da bi se dobila mora doći do kontrolisane oplodnje između roditeljskih komponenti u semenskoj proizvodnji.

Kukuruz je monoecična biljka sa fizički razdvojenim muškim i ženskim cvetovima (dvodoma, hermafroditna), što je vrlo pogodno za proizvodnju hibridnog semena u velikim količinama. Metlica (muška cvast kod kukuruza) raste iz vršnog apikalnog meristema, dok klipovi nastaju iz pazušnog pupoljka. Transferom vijabilnog polena sa prašnika metlice na svilu tučkova na klipu dešava se oprasivanje. Kod nekontrolisanog ili slobodnog oprasivanja, vetar je glavni prenosilac polena kod kukuruza, pa oko 95% zrna nastaje stranooplodnjom, a samo kod 5% dolazi do samooplodnje (Poehlman i Sleper, 1995; Feil i Schmid, 2002). Najveći deo polena koji oprasi klip kukuruza dolazi od biljaka iz neposredne blizine, iako vetar može da nosi polen na velike razdaljine (Luna i sar., 2001).

Kukuruz je, kao što je prethodno objašnjeno, vrlo pogodan za semensku proizvodnju. U proizvodnji hibridnog semena jedna je linija majka, koja je oprasena polenom oca i sa nje se bere klip sa F1 semenom. Druga linija je otac i samo oprasivanjem njegovim polenom nastaje F1 seme (Šema 1). U semenskoj proizvodnji nekog hibrida, samo polen očinske komponente bi trebalo da kruži u polju i nije svejedno koja od dve inbred linije će to biti ($A \times B$ nije isto što i $B \times A$).



Šema 1. Proizvodnja hibridnog (F1) semena kod kukuruza

U praksi, semenski usev kukuruza se obično seje tako da na svakih 4 ili 6 redova majčinske linije dođu 2 reda oca. Kruženje polena samo očinske komponente postiže se zakidanjem metlica na majčinskoj komponenti. Međutim, ovaj sistem ima puno nedostataka, od kojih je najveći zahtev za velikim količinom radne snage, što je vodilo povećanju troškova semenske proizvodnje (Airy, 1950). Muška sterilnost jedan je od načina da se prevaziđe problem zakidanja metlica u semenskoj proizvodnji kukuruza.

2.2. CITOPLAZMATIČNA MUŠKA STERILNOST

Obrazovanje muškog gametofita u anterama dešava se kroz tačno određene razvojne faze. Poremećaj u normalnom razvoju antera često rezultuje muškom sterilnošću. Muška sterilnost odnosi se na nemogućnost biljke da proizvodi polen sposoban za oplodnju. Dakle, biljka ne proizvodi polen uopšte ili ga proizvodi u izvesnoj količini, ali taj polen je zakržlja i nefunkcionalan. Muška sterilnost izučavana je kako zbog svoje biološke značajnosti, tako i zbog komercijalne upotrebe u proizvodnji hibridnog semena. Može biti uzrokovana genima ili faktorima spoljašnje sredine, a ponekad i kombinacijom oba faktora (Kaul, 1988). Ukoliko se geni koji determinišu mušku sterilnost nalaze u jedru, takva sterilnost je genska ili nuklearna. Međutim, ukoliko je muška sterilnost uzrokovana



komplementarnom akcijom jedarnih i mitohondrijalnih gena, onda se ona naziva citoplazmatična muška sterilnost ili CMS.

Dve bitne karakteristike vezane su za CMS: (i) ovo svojstvo ne podleže Mendelovim pravilima nasleđivanja, tj. nasleđuje se samo preko majke (citoplazme) i (ii) da bi genotip ispoljavao sterilnost on mora da bude recessivno homozigotan za gen (gene) restorere fertilitati. Citoplazmatična muška sterilnost je vezana za mutacije gena koji se ne nalaze u jedarnom već u mitohondrijalnom genom – iako i hloroplasti imaju svoju DNK, većina gena koji determinišu CMS nalaze se u mitohondrijama (Newton, 1988; Levings i Brown, 1989; Schnable i Wise, 1998; Chase i Gabay-Laughnan, 2004; Hanson i Bentolila, 2004). Geni restoreri fertilitati (*Rf*) zaslužni su za povraćaj fertilitati kod CMS genotipova i imaju specifično delovanje u odnosu na tip CMS (Gabay-Laughnan i Laughnan, 1994). Bitno je spomenuti i da postoje dva tipa povraćaja fertilitati: sporofitno i gametofitno. Kod prvog tipa povraćaj se dešava u sporofitnom tkivu pre mejoze i diploidna biljka sa sterilnom citoplazmom heterozigotna za ovaj gen (CMS-*Rf/rf*) proizvodi dva tipa polenovih zrna, *Rf* i *rf*, kod kojih su oba funkcionalna. Kod gametofitnog tipa, restoracija se dešava posle mejoze, pa će polen CMS-*Rf/rf* biljke proizvoditi pola nefunkcionalnog, abortivnog polena (*rf*) i samo *Rf* polenova zrna će biti funkcionalna (Hanson i Betolila, 2004). Složenosti sistema povraćaja fertilitati doprinosi i različit broj *Rf* gena, kao i način njihovog delovanja (Schnabble i Wise, 1998), a ponekad su neophodni i geni modifikatori (Poehlman i Sleper, 1995).

Citoplazmatična muška sterilnost identifikovana je kod više od 150 vrsta biljaka (Laser i Lersten, 1972; Mackenzie i sar., 1994), a Rhoades (1933) je bio prvi koji je identifikovao ovu pojavu kod kukuruza, u populaciji iz Perua 1931. godine. Kod kukuruza su otkrivena tri tipa sterilne citoplazme: CMS-T (Texas), CMS-S (USDA) i CMS-C (Charrua) (Duvick, 1965; Beckett, 1971). Razlika između tipova CMS-a se utvrđuje na osnovu izrazito specifičnog reagovanja sterilnih genotipova na gene restorere fertilitati na taj način da svaki gen (ili geni) vraća fertilitat samo kod jednog tipa citoplazme. Test ukrštanja CMS genotipova sa biljkama nosiocima *Rf* gena, jeste najpouzdaniji metod za utvrđivanje tipa CMS, ali, takođe, i najkomplikovaniji i fizički zahtevan, pa su razvijene molekularne metode za lakše



utvrđivanje razlika između CMS genotipova (Pring i Levings, 1978; Kemble i Bedrock, 1980), od kojih se neke danas rutinski koriste (Liu i sar., 2002).

Rogers i Edwardson (1952) su prvi otkrili CMS-T tip sterilnosti u Meksičkoj populaciji „Golden June“. U periodu od 1950. do 1970. godine veliki deo semenske proizvodnje bazirao se na ovom tipu sterilnosti i u potpunosti je zamenio ručno zakidanje metlica. Dominantni jedarni geni *Rf1* i *Rf2* locirani na hromozomima 3 i 9 u potpunosti vraćaju fertilnost kod T tipa muške sterilnosti (Duvick, 1965), dok *Rf8* i *Rf** delimično vraćaju fertilnost ovog tipa (Dill i sar., 1997; Wise i sar., 1999). Povraćaj fertilitetu je sporofitnog tipa. Sterilnost kod ovog tipa uzrokovana je delovanjem gena specifičnog samo za CMS-T, *T-urf13* (Dewey i sar., 1987), koji kodira polipeptid veličine 13kD, sastavni deo unutrašnje membrane mitohondrije (Korth i sar., 1991; Rhoads i sar., 1994). S obzirom na to da je bila pouzdan i stabilan izvor CMS, skoro 85% hibrida gajenih u USA imao je T citoplazmu (Levings, 1993; Dewey i Korth, 1994). Epidemija bolesti uzrokovane vrstom *Helminthosporium maydis* rase T 1970. godine zahvatila je hibride sa CMS-T citoplazmom, dok su oni sa normalnom citoplazmom bili mnogo slabije oštećeni. Ovo je dovelo do prekida korišćenja ovog tipa sterilnosti u semenskoj proizvodnji.

CMS-S tip muške sterilnosti, poznat i kao USDA tip, otkrio je M. T. Jenkins iz USDA (United States Department of Agriculture), a za komercijalnu upotrebu razvili su je Jones i sar. (1957). Kod kukuruza se najčešće javlja (Gracen i sar., 1979; Vančetović i sar., 2010), a do sad je pronađen veliki broj izvora za ovaj tip sterilnosti (Sisco i sar., 1985). Za povraćaj fertilitetu zadužen je dominantni jedarni *Rf3* gen, a identifikovan je i novi termosenzibilni restorer gen (Gabay Laughnann i sar., 2009). Mehanizam povraćaja je gametofitni (Kamps i sar., 1996). Mitohondrijalni genomi CMS-S sadrže male plazmide S1 i S2, čije poreklo još uvek nije jasno (Pring i sar., 1977; Gabay-Laughnann i sar., 1995). Mitohondrije u CMS-S biljkama sintetišu velike polipeptide, koji se ne sintetišu kod biljaka sa normalnom (N), T i C citoplazmom (Forde i Leaver, 1980). Sinteza ovih polipeptida se ne suzbija ni u prisustvu *Rf3* gena, tj. kod CMS-S genotipova kojima je povraćena fertilnost (Newton, 1988; Zabala i sar., 1997). Ovaj tip sterilnosti karakteriše se spontanim reverzijama u fertilnost, koje su uzrok ili jedarnih mutacija ili



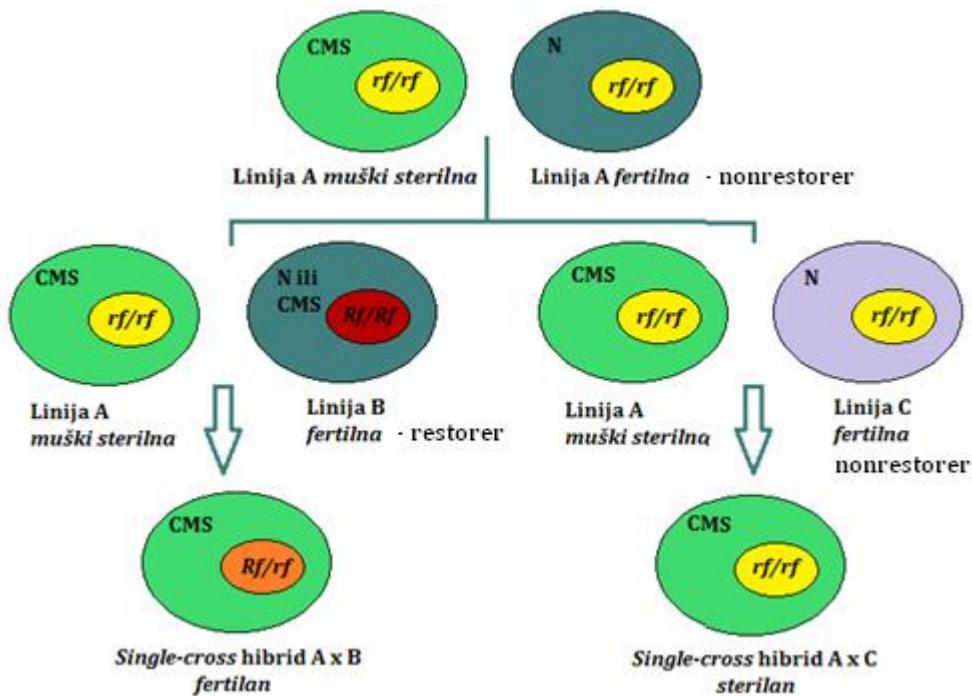
rearanžiranja gena u mitohondrijama (Laughnan i sar., 1981; Laughnan i Gabay-Lughnan, 1983), a kod revertanata se S1 i S2 plazmidi ne javljaju.

CMS-C je trenutno najzanimljiviji izvor muške sterilnosti za proizvodnju hibrida, a otkrio ga je Beckett (1971) u brazilskoj sorti Charrua. Otporan je na *H. maydis* i ne dolazi do spontane reverzije u fertilitet, a tip povraćaja fertilitet je sporofitan. Bar dva do tri gena (*Rf4*, *Rf5* i *Rf6*) su identifikovana kao odgovorna za restoraciju fertilitet kod ovog tipa citoplazme (Josephson i sar., 1978; Gracen, 1982; Gabay-Laughnan i Laughnan, 1994). Mehanizam povraćaja fertilitet CMS-C tipa još uvek nije u potpunosti jasan. Vidaković (1988) je pokazao da *Rf5* i *Rf6* geni deluju komplementarno sa *Rf4* radi potpune restauracije, međutim isti autor je dokazao postojanje bar još jednog gena, koji je ili duplikacija postojećeg ili novi paraleleni sistem (Vidaković i sar., 1997). Mitohondrije ovog tipa sterilnosti sintetišu polipeptid veličine 17.5 kDa, koji ulazi u sastav mitohondrijalne membrane, umesto uobičajenog polipeptida 15.5 kDa koji sintetišu mitohondrije u N, T i S citoplazmi (Forde i Leaver, 1980; Leaver i Gray, 1982). Prisustvo *Rf* gena ne redukuje sintezu ovog proteina u CMS-C mitohondrijama (Forde i Leaver, 1980). Mana ovog tipa je česta pojava tzv. probijanja sterilnosti. Karakteriše se pojavom antera na sterilnoj metlici, koje mogu biti potpuno prazne i suve, a u nekim uslovima i potpuno fertilne, iako biljka ima sterilnu citoplazmu. Prema većini istraživača pojava je uslovljena jedarnim genomom i, kao kvantitativna osobina, pod uticajem je velikog broja minor gena (Tracy i sar., 1991). Probijanje sterilnosti kod CMS-C tipa zahteva veliki oprez u semenskoj proizvodnji, jer se ova pojava zbog uticaja spoljašnje sredine nikad ne može isključiti. Još jedna mana ovog tipa CMS je što postoji veliki broj prirodnih restorera (30-50%), što prilično komplikuje i produžava proces prevođenje majčinske komponente na sterilnost (Josephson i sar., 1978).

Kako se citoplazmatična muška sterilnost koristi u semenskoj proizvodnji? Da bi se hibrid proizvodio na bazi CMS, neophodno je da majčinska inbred linija (A) bude sterilna, tj. da njen genotip bude CMS-*rf/rf*, a očinska inbred linija (B) dominantno homozigotna za gene restorere, sa normalnom ili sterilnom citoplazmom (N-*Rf/Rf* ili CMS-*Rf/Rf*). F1 generacija imaće sterilnu citoplazmu i biće heterozigotna za gene restorere (CMS-*Rf/rf*), što znači da će hibridne biljke biti



većinom fertilne (kod gametofitnog tipa povraćaja fertilitnosti samo pola je fertilno). Prevođenje komponenti hibrida na ovaj sistem proizvodnje izvodi se kroz veliki broj povratnih ukrštanja (Eckhardt, 1954), ali se proces može ubrzati korišćenjem zimske generacije. Isto tako, metodom očinskih dihaploida za samo dve godine može se dobiti majčinska komponenta prevedena na CMS (Belicaus i sar., 2007). Sve komercijalne linije se u isto vreme prevode na tri varijante: sterilnu, nonrestorer – održivač sterilne (ako je linija prirodni restorer) i restorer za dati tip CMS-a. Praktično, to znači da linija A, ako se koristi u semenskoj proizvodnji hibrida na bazi CMS, postoji u tri varijante: NA-*rf/rf* (nonrestorer, normalna (N) citoplazma); CMSA-*rf/rf* (sterilna varijanta) i CMSA-*Rf/Rf* (restorer za dati tip sterilnosti). Ovo je stoga što se mnoge linije koriste i kao očevi i kao majke, pa ih treba održavati u sve tri verzije. Nonrestorer verzija služi za umnožavanje sterilne verzije, koja ne može samu sebe da oplodi. Na Šemci 2 prikazan je proces proizvodnje hibrida na bazi CMS.



Šema 2. Proizvodnja fertilnih i sterilnih hibrida na bazi CMS

Još u XIX veku Watson (1893) je, poredeći fertilni i kukuruz sa zakinutim metlicama, utvrdio da prevelika proizvodnja polena dovodi do smanjenja prinosa kukuruza. Naime, samo 15% od ukupne količine polena proizvedenog od strane



biljaka dovoljno je za oplodnju čitavog polja. Sa otkrićem CMS i njegove upotrebe u semenskoj proizvodnji hibrida, oplemenjivači su počeli da istražuju njen efekat na prinos i ostale agronomске osobine kukuruza u poređenju sa ručnim zakidanjem metlica. Rogers i Edwardson (1952), Duvick (1958), Duvick (1959), Everett (1960), Chinwuba i sar. (1961), Sanford i sar. (1965) dobili su različite i protivrečne rezultate uticaja CMS-a na prinos zrna kukuruza. Međutim, Rogers i Edwardson (1952), Duvick (1965), Sanford (1965) i Pintér (1986) utvrdili su pozitivan efekat sterilnosti, za koji su Chinwuba i sar. (1961), Duvick (1965), Bruce i sar. (1966) utvrdili da se posebno ispoljava u uslovima stresa. Sa druge strane, Borgeson (1943) i Kiesselbach (1945) nisu utvrdili pozitivan efekat zakidanja metlica, verovatno zbog mehaničkog oštećenja listova. U uslovima suše, CMS biljke kukuruza upijaju više vode iz zemljišta nego fertilne biljke (Vincent i Wooley, 1972), i to najviše u vreme cvetanja. Neki istraživači su utvrdili da efekat zavisi od genotipa koji se ispituje, kao i uslova spoljašnje sredine (Duvick, 1958; Duvick 1965; Rogers i Edwardson, 1952; Everett, 1960; Lim i sar., 1974). Craig (1977) je ispitivao efekat zakidanja metlica na težinu i broj zrna i zaključio da se prinos menja preko promene broja zrna. Obrazovanje polena je proces koji zahteva veliku količinu hranljivih materija, posebno azota. Fertilni polen je veliki recipijent mineralnog azota, više nego bilo koji drugi deo biljke. Početak reproduktivne faze je kritični period za biljku i dovoljna količina ovog elementa je ključna za optimalan razvoj klipa kukuruza. Nedovoljna količina bi sigurno imala negativan efekat na ukupan broj zrna i masu hiljadu zrna (Chinwuba i sar., 1961). Po Hess-u (1990) suv polen sadrži 16-30% proteina, a odnos azota prema proteinima je 1:6,25. Potrebe sterilnih biljaka u azotu su oko 10-30 kg/ha manje nego kod fertilnih, pa se ova količina hranljive materije umesto za proizvodnju polena usmerava u ženske reproduktivne organe i tako dovodi do povećanja prinosa. Kod kukuruza klip ima veliku moć usvajanja i tokom nalivanja zrna neprestano uzima asimilate (Hirel i sar., 2005), a CMS biljke mogu da skladište i preusmere azot u klip kako bi doprinele višem prinosu zrna. Smanjena potrošnja azota, vode i energije za formiranje polena u vreme cvetanja kod sterilnih biljaka može rezultirati i u povećanju broja zrna po klipu (Vega i sar., 2001).



Muški sterilni hibridi često imaju viši prinos pri većoj setvenoj gustini (Duvick, 1957; Chinwuba i sar., 1961). Iako je potencijal muški sterilnih hibrida zapostavljen, dva istraživanja modernijih genotipova potvrđuju prednost CMS hibrida, kao i uticaj spoljašnjih uslova (Kálmán i sar., 1985; Stamp i sar., 2000). Andrade i sar. (1996) su utvrdili povećanje broja zrna po jedinici površine sterilnih u odnosu na fertilne hibride u optimalnoj setvenoj gustini. Stamp i sar. (2000) su kod dva hibrida i jedne populacije ispitivali uticaj CMS, a ispitivani su genotipovi sa fertilnom i sterilnom citoplazmom u T tipu. Kod oba hibrida došlo je do povećanja prinosa zrna u odnosu na fertilnu verziju, koje je kod boljeg, u većoj setvenoj gustini, iznosilo i do 19%, a povećanje je došlo preko povećanja mase hiljadu zrna i broja zrna po klipu. Sterilna populacija imala je čak 23,2% viši prinos zrna u odnosu na fertilnu verziju. Kaeser (2002) je ispitivao uticaj sterilne citoplazme, kao i različitih tipova sterilnosti na prinos zrna hibrida kukuruza. Kod svih ispitivanih sterilnih hibrida u svim tipovima citoplazme utvrđen je viši prinos u odnosu na fertilne analoge, što je dobijeno preko povećanja broja zrna po jedinici površine i, kod nekih hibrida, mase hiljadu zrna. Primećeno je i da sterilni hibridi u stresnim uslovima imaju stabilniji prinos. Takođe, hibridi u C tipu sterilnosti su imali viši prinos od onih u S tipu pri povoljnijim spoljašnjim uslovima. Ovo se objašnjava time što S tip prekida produkciju polena u kasnijim fazama u odnosu na druga dva tipa sterilnosti (Kaul, 1988). Tri od sedam sterilnih hibrida u T tipu, koje su Weingartner i sar. (2002a) ispitivali, imali su značajnije viši prinos od fertilnih analoga, u proseku 7,4%, kao i broj zrna po jedinici površine ($p<0.05$), dok uticaj sredine nije utvrđen. Takođe, tri hibrida su imala viši prinos od svojih sterilnih analoga, ali ne značajno, dok je kod jednog hibrida došlo do neznačajnog smanjenja prinosa. Isti autori su kod tri hibrida u dve lokacije utvrdili blagu tendenciju CMS hibrida da brže gube vlagu u odnosu na fertilnog analoga. U proizvodnim ogledima, Weingartner i sar. (2002b) su ukazali da sterilnost utiče na povećanje prinosa kod hibrida kukuruza, ali ne značajno. Christophe (2008) je ispitivao sterilni hibrid u C tipu i pokazao neznačajno viši prinos od fertilnog analoga, kao i veći broj zrna po klipu, ali i neznatno nižu masu hiljadu zrna. Munsch (2008) je ispitivala 12 hibrida u različitim tipovima sterilnosti i utvrdila da je uticaj CMS na prinos zrna bio od -8% do +8%. Iako tip citoplazme nije bio odlučujući, tri hibrida u C tipu su pokazala



konzistentan rast broja zrna (8,7%, bez značajnosti), dok je jedan hibrid u T tipu imao značajno nižu masu hiljadu zrna (-8%, $p<0.05$). S druge strane, Uribelarrea i sar. (2008), poređenjem CMS i hibrida sa zakinutim metlicama sa njihovim fertilnim verzijama nisu utvrdili povećanje prinosa. Ovo se donekle objašnjava modernim hibridima, koji imaju manju metlicu i povećanu toleranciju na stres (Duvick, 2005).

Činjenica da muški sterilne biljke kukuruza daju veći prinos od njihovih fertilnih analoga za otprilike 5-10%, pogotovo u stresnim uslovima, a takođe i da pojedini hibridi proizvedeni na muški sterilnoj osnovi imaju povećan prinos, podstakla je proizvođače da seju hibridno seme sa delimično obnovljenom fertilnošću, odnosno u merkantilnoj proizvodnji seju mešavinu sterilne i fertилне varijante istog hibrida (Vidaković i Vančetović, 1994). Udeo muški sterilnih biljaka obično oscilira od 50 do 70%, dok za kvalitetno oplođenje useva ne sme biti manje od 25% fertilnih biljaka. Uzimajući u obzir ekstremne klimatske promene i njihov potencijalni negativni uticaj na prinos kukuruza (Maklenovic i sar., 2009; Surlan-Momirović i sar., 2009), ovakav sistem proizvodnje može biti odgovor na nepovoljne spoljašnje uslove.

Ispitivan je i uticaj sterilne citoplazme na kvalitet zrna hibrida kukuruza (Weingartner i sar., 2004). Sa izuzetkom jednog od sedam ispitivanih hibrida, zrna svih CMS hibrida su pokazala tendenciju da sadrže nešto manje azota nego zrna muški fertilnih hibrida, ali ove razlike nisu bile značajne. Sadržaj ugljenika u zrnu nije bio pod uticajem sterilnosti, dok su svi CMS hibridi imali povećan prinos proteina u zrnu, prosečno 5,3%, bez značajnosti. Ovo se ne povezuje toliko sa povećanjem sadržaja proteina u samom zrnu, već povećanjem prinosa zrna, pa samim tim i prinosa proteina. Nasuprot ovim rezultatima, Weider (2008) je utvrdio značajno povećanje sadržaja azota u zrnu od 11% kod sterilnog u odnosu na fertilni hibrid. Pored ovih osobina, utvrđeno je da CMS utiče na visinu biljke i da su sterilne biljke nešto niže u odnosu na fertilne analoge (Grogan i sar., 1971). Isti autor je utvrdio da se sterilna i fertilna verzija inbred linije najmanje razlikuju u visini klipa i sadržaju vlage u zrnu.



2.3. KSENIJA – NEPOSREDNI EFEKAT STRANOG OPRAŠIVAČA NA ZRNO

Focke (1881) je prvi opisao uticaj stranog polena tj. oprašivača na seme odmah nakon oplodnje i ovaj efekat nazvao ksenija. Ksenija se, dakle, odnosi na neposredni efekat stranog polinadora na nematerinsko tkivo semena (embrija i endosperm) i posebno je bitan kod vrsta koje imaju razvijen endosperm, kao kukuruz. U zrnu kukuruza, pola embriona i jedna trećina endosperma zrna majke je porekлом od oca, gde klica predstavlja 11%, a endosperm 83% suve mase zrna (Kiesselbach, 1960; Tollenar i Dwyer, 1999). Jasno je da bi sve osobine koje su u vezi sa ovim delovima zrna mogle biti modifikovane pod uticajem očinskog genotipa. U konvencionalnoj proizvodnji hibridnog semena, iskorištava se efekat heterozisa ukrštanjem dve genetički udaljene inbred linije, i dobija hibridno F1 seme, tj. generacija. Ukoliko posejemo samo jedan hibrid, dobijeno seme na klipu je u stvari F2 generacija u kojoj dolazi do inbridning depresije, jer je homozigotnost povećana usled izogenog oprašivanja. U slučaju stranog oprašivanja, efekat oca koji se ogleda u genima polena, može da utiče na veličinu i kvalitet endosperma i klice, što može uticati na povećanje prinosa zrna. Geni porekлом od oca mogu da utiču na oblik, boju, hemijski sastav i vreme razvoja perikarpa, mezokarpa i endosperma, kao i težinu klice i proizvodnju semena i ploda (Denney, 1992). Ovu teoriju prvi su kod kukuruza potvrdili Kiesselbach i Cook (1924). Kiesselbach (1926) je objavio da je strano oprašivanje uticalo na povećanje mase zrna od 10.1% kod kukuruza. Povećanje prinosa zrna od čak 35% isti istraživač je dobio oprašivanjem linije šećerca kao majke sa linijom tvrdunca u odnosu na samooplodenu istu liniju šećerca. Tsai i Tsai (1990) su oprašivanjem ranog hibrida sa hibridom kasnije FAO grupe dobili povećanje prinosa od oko 30% i akumulacije proteina od 44%. Hoekstra i sar. (1985), Seka i Cross (1995), Bulant i Gallais (1998), Weingartner i sar. (2002b), Weingartner i sar. (2002a), Weider (2008) su pokazali uticaj ksenija na težinu zrna, zatim embriona (Doehlert i Lambert, 1991), što vodi povećanom prinisu zrna (Hoekstra i sar., 1985; Weiland, 1992; Seka i Cross, 1995). Bulant i Gallais (1998) su utvrdili prosečno povećanje težine zrna inbred linija pod uticajem ksenija od 11% do 13% u zavisnosti od godine ispitivanja, dok je ovaj efekat bio duplo slabiji kad je kao majka korišćen jednostruki hibrid. Weiland



(1992) je utvrdio modifikaciju efekta ksenije pod uticajem spoljašne sredine. Weingartner i sar. (2002a) su, za neke od ispitivanih hibrida, utvrdili uticaj ksenija i na broj zrna kod kukuruza. Oni su utvrdili da je efekat polinadora na prinos, masu i broj zrna bio značajan na nivou od 0.001. Interakcije pollinator \times spoljna sredina i polinator \times CMS hibrid nisu bile statistički značajne, što ukazuje da izvor polena određuje prinos zrna ispitivanih hibrida bez obzira na njihov genotip ili spoljnju sredinu. Munsch (2008) je identifikovala jak uticaj ksenija koji se kretao od -20% do +20% na prinos zrna u odnosu na izogeno oprášeni hibrid i od -12% do 26% na masu hiljadu zrna u svim sredinama.

Weider (2008) je u svom istraživanju utvrdio da je za povećanje težine zrna najviše odgovoran heterozis, ali da ne treba zanemariti i epigenetski efekat.

Mešanje hibrida različitih semenskih kompanija povećava prinos zrna, što je rezultat ksenije, a preko povećanja mase pojedinačnog zrna (Westgate i sar., 1999). Pokazalo se da ksenija utiče i na dužinu perioda nalivanja zrna (Tsai i Tsai, 1990). Poneleit i Egli (1983) su takođe pokazali da je efektivan period nalivanja zrna nakon stranooplodnje duži nego nakon samooplodnje. Bulant i sar. (2000) su utvrdili da ubrzo nakon oplodnje stranim polenom dolazi do promene u aktivnosti enzima u zrnu, međutim ovo nije do kraja objasnilo efekat ksenija. Liu i sar. (2010) su dobili povećanje prinosa zrna od 10,7% do 12,8% pod uticajem stranog polena kod jednog hibrida, dok je ksenija negativno uticala na prinos drugog hibrida smanjenjem od 12,9% do 18,4%. Takođe, nisu dobili promenu u broju zrna po klipu, kao ni u broju klipova po hektaru pod uticajem stranog polena, što znači da je povećanje prinosa zrna dobijeno preko povećanje mase zrna, tj. stope nalivanja istog. Isti autori su utvrdili da majčinski genotip može da modifikuje efekat ksenija na prinos zrna i da ovaj zavisi od toga koji genotip je majčinski, a koji očinski. Liu i sar. (2010) su pored ovoga, utvrdili promene u nivou hormona kod stranooplođenih zrna, kao i promenu u stopi deobe ćelija endosperma, što bi moglo da objasni povećanje mase zrna pod uticajem ksenija.

Hemijski sastav zrna takođe može biti modifikovan pod uticajem ksenija (Letchworth i Lambert, 1998), preko promene udela ulja (Lambert i sar., 1998; Thomison i Geyer, 1999), kao i proteina (Tsai i Tsai, 1990; Weingartner i sar., 2004). Tsai i Tsai (1990) su utvrdili da ksenija pored proteina značajno povećava i



akumulaciju azota u zrnu. Weingartner i sar. (2004) su pokazali negativan uticaj ksenije na sadržaj proteina u zrnu kod jednog hibrida, gde je u proseku došlo do smanjenja od 11,6%. Međutim, kod drugog hibrida je primećen pozitivan efekat na sadržaj proteina u zrnu, gde se u zavisnosti od hibrida polinatora povećanje kretalo od 2,8% do 7,2%. Perenzin i sar. (1980) tvrde da je akumulacija skroba pod uticajem gena očinskog roditelja. U preliminarnim istraživanjima Bulant i sar. (2000) ksenija je značajno povećala sadržaj skroba u zrnu, mereno 25 dana nakon polinacije, dok je u dialelnom ogledu prednost stranog oprasivača u odnosu na samoopršivanje bila pozitivna, ali na granici značajnosti. Kod kukuruza je utvrđeno da ksenija (izvor polena) nije statistički značajano uticala na infekciju vrstom *Aspergillus flavus* i kontaminaciju zrna aflatoksinom (Gardner i sar., 2006).

Praktična primena ksenija u proizvodnji kukuruza izvršena je preko TopCross visokouljanih hibrida (patentirano od strane DuPont Specialty Grains, Des Moines, IA). Naime, u smeši se gaji 90% CMS hibrida i 10% visokouljanog oprasivača (sintetik, pseudo-hibrid ili populacija) (Edge, 1997). Polen koji proizvodi oprasivač sadrži gene koji utiču na povećanje veličine klice (Lambert i sar., 1998), što rezultuje povećanjem sadržaja ulja i proteina u zrnu (Thomison i sar., 2002; Thomison i sar., 2003).

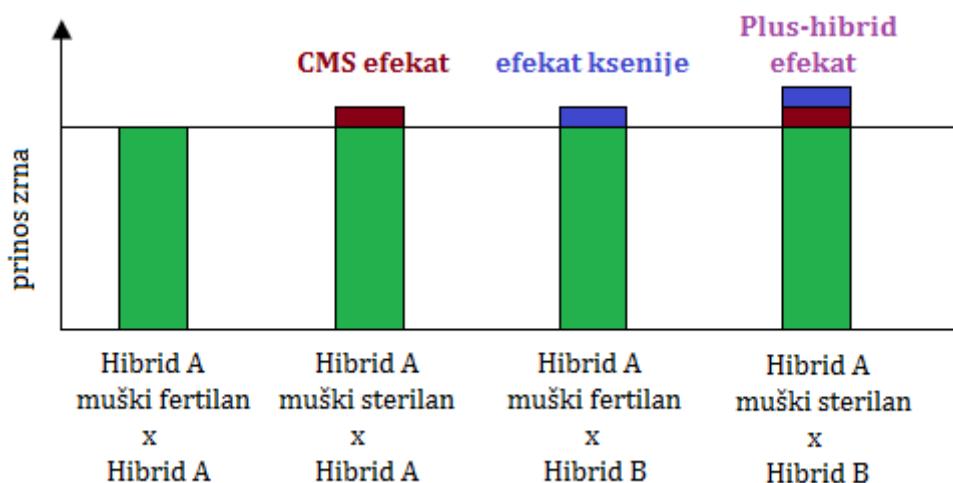
2.4. PLUS-HIBRID EFEKAT – KOMBINOVANI EFEKAT CITOPLAZMATIČNE MUŠKE STERILNOSTI I KSENIJA

Pojam Plus-hibrid sistem prvi put se pojavljuje početkom XXI veka u istraživanju Weingartner i sar. (2002b) i rezultat je traženja alternativnih načina povećanja prinosa kukuruza bez povećanja površina pod kojim se ovaj usev gaji. Odnosi se na korišćenje citoplazmatične muške sterilnosti i ksenija u komercijalnoj proizvodnji kukuruza, mešanjem sterilne verzije jednog i fertilne verzije drugog hibrida. U praksi bi se u smeši gajilo 80% visokoprinosnog CMS hibrida i 20% fertilnog hibrida polinatora. Kombinovani efekat CMS i ksenija naziva se Plus-hibrid efekat.

U preliminarnim ispitivanjima Plus-hibrid efekta Weingartner i sar. (2002a) su koristili sedam dvolinijskih hibrida dobijenih ukrštanjem evropskih tvrdunaca i zubana u T tipu sterilnosti i deset dvolinijskih hibrida oprasivača. Plus-hibrid



efekat na prinos zrna kod svih ispitivanih hibrida preko različitih lokacija i godina je bio pozitivan i došlo je do povećanja prinosa u proseku za 9,1%. Jedna Plus-hibrid kombinacija imala je za 21,4% viši prinos od svog fertilnog analoga izogeno opraprošenog.



Šema 3. Plus-hibrid efekat na hibrid kukuruza

Novi Plus-hibrid sistem se može preporučiti za praksu jedino ako je povećanje prinosa postojano u različitim uslovima sredine i pri korišćenju različitih materijala. U istraživanju Weingartner i sar. (2002b) ispitivan je Plus-hibrid efekat u mikroogledima, korišćenjem dva dvolinijska CMS hibrida (između evropskih tvrdunaca i zubana) i tri fertilna opraprošivača u Švajcarskoj, i dva dvolinijska CMS hibrida (između zubana kukuruznog pojasa Amerike) i četiri opraprošivača, kao i jedan CMS hibrid sa pet opraprošivača u SAD. U proizvodnim strip-ogledima, u tri godine, ispitivane su i kombinacije jednog CMS hibrida sa četiri opraprošivača u Švajcarskoj (smeša 85% CMS hibrida i 15 % opraprošivača) i jednog CMS hibrida sa dva opraprošivača u SAD (smeša 80% CMS hibrida i 20% opraprošivača). U ogledima u Švajcarskoj najbolja Plus-hibrid kombinacija rodila je 1,7 t/ha više u mikroogledima, odnosno 1,1 t/ha više u strip ogledima od fertilnog hibrida. U SAD ovaj efekat nije bio tako jak i očigledan. Verovatno je obrazloženje ovakvih rezultata u većoj genetičkoj divergentnosti korišćenog evropskog u odnosu na američki material. Takođe, u Evropi je korišćen CMS-T, a u SAD CMS-C i CMS-S



tipovi citoplazme. Autori zaključuju da ovaj sistem može dovesti do povećanja prinosa kukuruza pri gajenju u optimalnim uslovima sredine, a sprečiti gubitak prinosa u lošijim uslovima sredine.

Weingartner i sar. (2004) su ispitivali kombinovani efekat CMS i ksenija na hemijski kvalitet zrna. Ni kod jednog od testiranih hibrida nije utvrđena značajna promena sadržaja azota i ugljenika u zrnu pod uticajem ova dva faktora. Ovo znači da se sa povećanjem prinosa zrna kod kukuruza u Plus-hibrid sistemu gajenja neće smanjiti kvalitet zrna preko sadržaja proteina. Štaviše, ako je dovoljna količina azota dostupna, preko ovog sistema gajenja proizvođači mogu, pored povećanja prinosa zrna, očekivati i povećan prinos proteina po jedinici površine.

Kako bi se optimizovao Plus-hibrid sistem gajenja kukuruza, ispitivale su se opšta polinatorska sposobnost, kao i posebna kombinaciona sposobnost (OPS tj. PKS) očinskih hibrida (Weingartner i sar., 2002a). U skladu sa opštim kombinacionim sposobnostima, OPS je definisan kao prosečan efekat polinatora u kombinaciji sa setom majčinskih hibrida. S druge strane, PKS je u istraživanju korišćena kako bi se istakle one Plus-hibrid kombinacije koje su imale bolji ili lošiji performans nego što bi se to očekivalo na osnovu performansa pojedinačnih hibrida. Šest korišćenih hibrida pokazalo je značajno različitu sposobnost da utiču na prinos zrna, kao i masu i broj zrna, pri čemu je četiri imalo visoku pozitivnu OPS za prinos zrna. Prema Becker-u (1993) biranje roditelja za ukrštanja uz pomoć opštih kombinacionih sposobnosti pouzdanije je nego na osnovu osobina genotipa *per se*. U skladu sa prethodnim, OPS može biti vrlo korisna u određivanju podobnih polinatora za Plus-hibrid sistem.

U potencijalnoj Plus-hibrid smeši vrlo je bitno da sterilni hibrid i hibrid opršivač sinhrono cvetaju kako bi došlo do optimalne oplodnje majke. Period polinacije individualne biljke traje oko sedam dana u povoljnim uslovima (Hall i sar., 1982), a više od 65 % polena koji proizvede jedna metlica raspe se u prvoj polovini ovog perioda (Sadras i sar., 1985). Da bi se dobio maksimalan set zrna u slobodno opršujućem polju neophodno je do sedam dana polinacije (Struik i sar., 1986). Maksimalno zametanje zrna dobija se kad do polinacije dođe tri do osam dana nakon izlaska prve svile (Carcova i sar., 2000; Anderson i sar., 2004). Kaeser i sar. (2003a) su takođe ispitivali uticaj starosti svile na prinos i komponente



prinosa zrna kukuruza u Plus-hibrid sistemu gajenja. Utvrđili su da se maksimalan broj zrna dobija opršivanjem tri do pet dana nakon pojave svile. Isti istraživači su utvrđili da CMS kod hibrida ne utiče na proces starenja svile, tj. da nema ni pozitivan ni negativan uticaj na zametanje zrna pri zakasneloj polinaciji.

Po Bulantu i Gallaisu (1998) dobit od ksenija je povezana sa genetičkom distancicom između genotipova. Već je pomenuto da se efekat ksenija tumači uglavnom povećanjem heterozigotnosti u zrnu nakon stranooplodnje (Bulant i sar., 2000), pa bi bilo logično pretpostaviti da se sa povećanjem genetičke distance između roditeljskih komponenti (hibrida ili inbred linija) povećava i efekat ksenija. Munsch (2008) je ispitivala da li genetička distanca između CMS hibrida i polinatora u Plus-hibrid sistemu pojačava efekat ksenija. Korišćeno je 20 SSR prajmera i dobijen 71 alel u ispitivanju 30 genotipova, sa prosekom od 3,6 alela po lokusu. Ni za jedan od Plus-hibrida u istraživanju nije nađena povezanost između genetičke distance i efekta ksenija kako za prinos tako i za masu hiljadu zrna, što ukazuje da se genetička distanca ne može koristiti u predviđanju efekta ksenije u Plus-hibrid kombinacijama.

Plus-hibrid sistem se može uspešno koristiti i za sprečavanje rasipanja polena genetički modifikovanog CMS kukuruza u smeši sa nemodifikovanim fertilnim kukuruzom. Feil i sar. (2003) su našli da se ovakvim pristupom mogu dobiti prinosi koji su na nivou, ili čak veći, od fertilnog useva, pogotovo ako se korisiti genetički nesrođan opršivač. U vezi sa ovim Weider i sar. (2009) su utvrđili da su hibridi u CMS-C i CMS-T tipovima sterilnosti stabilniji u različitim uslovima od onih u CMS-S tipu.

Fusarium verticillioides (Saccardo) Nirenberg (syn. *F. moniliforme* Sholden) je gljivična vrsta koja je najčešći prouzrokovač ružičaste truleži zrna žita, kako u svetu tako i u Srbiji (White, 1999; Lević, 2008). Ovaj prouzrokovač truleži utiče na smanjenje prinosu zrna kukuruza i osobine vlažnog mlevenja kao i nutritivnu vrednost zbog sposobnosti sinteze mikotoksina FB₁ (Munkvold i Desjardins, 1997; Lević i sar., 2004). Utvrđen je značajan majčinski efekat u nasleđivanju otpornosti zrna kukuruza prema *F. verticillioides* (Headrick i Pataky, 1991), kao i srednja do visoka naslednost i jaka genetička korelacija između truleži klipa i koncentracije fumonizina (Robertson i sar., 2006). Međutim, drugačiji sojevi *F. verticillioides*



proizvode fumonizine različitim intenzitetom, stoga korelacija nije obavezna (Munkvold and Desjardins, 1997). Ova vrsta je i najčešći patogen kukuruza, međutim, često zaražene biljke ne pokazuju nikakve simptome, pa samim tim i sadržaj mikotoksina u zrnu može proći neopaženo. Izloženost FB1 uzrokuje leukoencefalomalaciј (LEM) kod konja i plućni edem kod svinja. Prisutnost fumonizina kukuruza je bila povezana sa vrstom ezofagnog raka koji se javlja kod ljudi u Transkei (Južna Afrika) i Kini. Do sada nema podataka o tome da li i CMS i/ili ksenije utiču na osetljivost na ovu vrstu, kao i na sintezu mikotoksina.



3. RADNA HIPOTEZA

Pri postavci osnovnih elemenata ove disertacije pošlo se od premise da citoplazmatična muška sterilnost kod kukuruza statistički značajno utiče na prinos i neke druge agronomске osobine. Pretpostavlja se da će CMS pozitivno uticati na prinos zrna, preko povećanja mase i broja zrna. Očekuje se, takođe, da CMS ne utiče negativno na kvalitet zrna, kao i da kod sterilnih genotipova ne dolazi do pogoršanja zdravstvenog stanja semena.

Pretpostavka je da će efekat ksenija na prinos zrna biti pozitivan i da će ksenije uticati na masu zrna i njihov broj. U disertaciji se ispituje hipoteza da će pod uticajem ksenija doći do povećanja kvaliteta zrna, a preko povećanja sadržaja ulja u istom. Takođe se očekuje da ksenije ne utiču na zdravstveno stanje zrna genotipova.

Kombinovani efekat citoplazmatične muške sterilnosti i ksenija na najbitnije osobine hibrida kukuruza bi trebalo da bude pozitivan. Takođe, Plus-hibrid efekat bi trebalo da bude jači nego pojedinačni efekti CMS i ksenija i trebalo bi da je moguće naći bar jednu Plus-hibrid kombinaciju značajno bolju za ispitivane osobine od fertilnog analoga majčinskog hibrida izogeno opraprošenog. Očekuje se da će se Plus-hibrid kombinacije međusobno statistički razlikovati i da će interakcija genotip × spoljašnja sredina biti značajna.

Jedna od hipoteza je da genetička distanca između hibrida u Plus-hibrid kombinacijama može imati uticaj na dobit od ksenija. Takođe se pretpostavlja da će se utvrditi hibridi polinatori sa dobrom opštim polinatorskim sposobnostima za neke od osobina koje se ispituju i da se na osnovu osobina očeva može predvideti njihov efekat na majčinski genotip. Osim ovoga, osobine izogeno opraprošenih fertilnih hibrida ZP 1 i ZP 2 nakon zakidanja metlica ne bi trebalo da se razlikuju od ZP 1ft i ZP 2ft kojima nisu zakidane metlice, radi pouzdanosti rezultata.

Ukoliko dobijeni rezultati pokažu prednost gajenja Plus-hibrid smeše u odnosu na konvencionalan način gajenja hibrida, ova tehnologija može dovesti do unapređenja u proizvodnji kukuruza u Srbiji, bez dodatnih troškova za semensku proizvodnju.



4. MATERIJAL I METOD RADA

4.1. BILJNI MATERIJAL I DIZAJN EKSPERIMENTA U POLJU

U eksperimentu su se koristila dva hibrida kao majke, ZP 1 i ZP 2 (njihove sterilne (st) i fertilne (ft) verzije), a kao polinatori sledeći hibridi: ZP 1ft, ZP 2ft, ZP 3ft, ZP 4ft i ZP 5ft. Ovi hibridi su srednje rani i pripadaju FAO grupi zrenja 300-400, a stvoreni su u Institutu za kukuruz "Zemun Polje" i u komercijalnoj su proizvodnji već godinama. Sterilne verzije ispitivanih hibrida imale su citoplazmu u CMS-S tipu muške sterilnosti, dok su fertilni hibridi imali normalnu (N) citoplazmu. Korišćen je S tip citoplazmatične muške sterilnosti zato što su majke hibrida prirodni restoreri za CMS-C tip. Pri prevodenju komponenti sterilnih hibrida na CMS osnovu radi konverzije u sterilnost urađeno je bar šest povratnih ukrštanja majčinskih inbred linija sa rekurentnim roditeljem. Više podataka o genetskoj osnovi korišćenih hibrida dato je u Tabeli 2.

Tabela 2. Tip hibrida korišćenih u istraživanju, kao i genetsko poreklo njihovih komponenti (pripadnost heterotičnoj grupi)

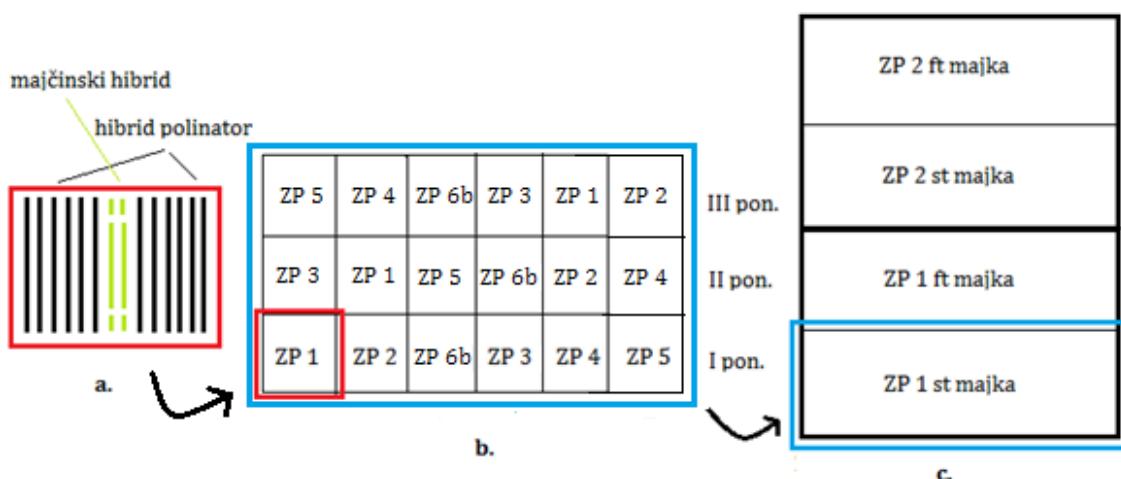
Hibrid	Tip hibrida	Poreklo (heterotična grupa)		Tip citoplazme
		Majčinska komp.	Očinska komp.	
ZP 1st	trolinijski	nezavisna ^a	Lankaster ^c	CMS-S
ZP 2st	trolinijski	nezavisna	Lankaster	CMS-S
ZP 1ft	trolinijski	nezavisna	Lankaster	N
ZP 2ft	trolinijski	nezavisna	Lankaster	N
ZP 3ft	trolinijski	nezavisna	Lankaster	N
ZP 4ft	dvolinjski	BSSS ^b	nezavisna	N
ZP 5ft	trolinijski	BSSS	Lankaster	N

^a - ni jedna od poznatih heterotičnih grupa; ^b - *Lancaster Sure Crop* heterotična grupa i ^c - *Iowa Stiff Stalk Synthetic* heterotična grupa.

Poljski ogled je bio postavljen po potpuno slučajnom blok (RCB) split-split plot eksperimentalnom dizajnu u tri ponavljanja na jednoj lokaciji u tri godine: 2009, 2010. i 2011. Glavne parcele bile su hibridi majke, podparcele njihove sterilne i fertilne verzije, a pod-podparcele hibridi polinatori. Na fertilnim majkama su se zakidale metlice. Svaka pod-podparcela se sastojala od 14 redova dužine 18



metara sa rastojanjem između redova 0,75 m, dok je rastojanje između bijaka u redu bilo 20 cm. U sredini pod-podparcele zasejane određenim opršivačem u srednja dva reda bila je posejana majka, udaljena 3,7 m od gornje i donje ivice pod-podparcele. Ukupno je bilo 100 biljaka majke po svakoj pod-podparceli. U okviru svake podparcele, u svakom od tri ponavljanja, posejana je pod-podparcela samo jednim hibridom bele boje zrna ZP-6b. Ova pod-podparcela istih je dimenzija kao i ona posejana majčinskim hibridima. Na ovom hibridu su se, takođe, zakidale metlice samo na dva srednja reda u delu planiranom za majku, a služio je za proveru čistoće opršivanja. Naime, ukoliko dođe do oplodnje sa žutim opršivačima dobiće se žuta zrna na belim klipovima. Na 20 klipova u okviru ovih pod-podparcela izračunat je procenat žutih zrna, što nam je dalo podatke o pouzdanosti eksperimenta.



Šema 4. Izgled eksperimenta u polju

- a.** Pod-podparcela: 14 redova po 18 m dužine, 6 redova polinatora - 2 reda majke - 6 redova polinatora; **b.** Podparcela: Sterilna ili fertilna verzija ispitivanih hibrida ZP 1 ili ZP 2, a polinatori se smenjuju po pod-podparcelama; **c.** ZP 1 i ZP 2 parcele sa svojim sterilnim i fertilnim verzijama kao podparcelama.

Setva ogleda u sve tri godine obavljena je mašinski krajem aprila ili u prvoj nedelji maja, u zavisnosti od godine, na lokaciji Zemun Polje. Tip zemljišta bio je degradirani černozem, a primenjena je uobičajena agrotehnika: jesenje oranje zemljišta, predsetvena priprema zemljišta setvospremačem, zatim nega useva



prskanjem herbicidom neposredno nakon setve (Acetohlor (a.m. acetohlor) 2l/ha) i korektivno prskanje nakon nicanja u fazi tri do četiri lista (Motivell (a.m. nikosulfuron) 1 l/ha + Callisto (a.m. mezotriion) 0,25 l/ha). Prosečne temperature i količine padavina tokom vegetacione sezone za sve tri godine prikazane se u Tabeli 3. Berba hibrida obavljena je ručno u fazi fiziološke zrelosti. Iz svake pod-podparcele, uzet je uzorak od po 20 klipova za ispitivanje agronomskih svojstava i majčinske i očinske komponente, kako bi se utvrdio eventualni uticaj oca na Plus-hybrid efekat. Nakon branja, uzorci su stavljeni u sušaru na 35°C nekoliko dana kako bi dostigli ravnotežnu vlagu.

Tabela 3. Količine padavina i prosečne temperature 2009, 2010. i 2011. godine tokom vegetacione sezone na lokaciji Zemun Polje

Mesec	Količina padavina (mm)			Prosečne temperature (°C)		
	2009	2010	2011	2009	2010	2011
April	27,3	7,3	44,0	13,8	15,8	13,2
Maj	39,7	27,4	64,1	19,3	19,9	17,5
Jun	36,3	71,9	167,3	23	21,0	21,0
Jul	46,2	31,2	35,6	23,7	24,1	23,2
Avgust	19,7	36,6	68,2	24	24,1	23,1
Septembar	54,4	4,0	68,0	17	20,6	17,6
Suma/Prosek	223,6	178,4	447,2	20,1	20,9	19,3

4.2. ISPITIVANE OSOBINE I STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

4.2.1. Ispitivane osobine u eksperimentu

U doktoratu su ispitivane sledeće osobine:

- a) ASI – *Anthesis-silking interval*: period od prašenja hibrida polinatora do svilanja majčinskog hibrida meren u danima za svaku pod-podparcelu. Pod datumom metličenja tj. svilanja podrazumeva se dan kad bar 50 % biljaka ispraši tj. isvila, a ASI se računao kada od dana do svilanja majke oduzmemmo dane do prašenja oca (Edmeades i sar., 2000). Smatra se da je biljka izmetličila ili isvilala ukoliko je bar jedna antera na metlici ili svilka na klipu vidljiva.



b) Procenat poleglih i slomljenih biljaka na pod-podparcelama.

Pod poleglim biljkama smatraju se one koje su nagnute pod uglom od 30° i više u odnosu na vertikalu, dok se slomljenom biljkom smatra ona koja je polomljena ispod nodusa koji nosi gornji klip.

c) Visina biljke (samo kod sterilnih, jer su se kod fertilnih majki zakidale metlice) i visina gornjeg klipa (prvi klip od metlice) merene su na 30 slučajno odabranih biljaka u okviru svake pod-podparcele.

d) Prinos zrna (t/ha) i procenat vlage zrna u momentu berbe.

Meren je prinos klipova bez komušine po pod-podparceli, a udeo vlage i oklaska izračunat je na osnovu 6 prosečnih klipova. Sadržaj vlage u zrnu meren je Dickey John GAC 2100 vlagomerom. Preračun prinosa zrna sa pod-podparcele na prinos u t/ha sa 14 % vlage radio se prema sledećoj formuli:

$$\left(\frac{10}{P} \right) \times Mep \times \left(\frac{Muz - Mok}{Muz} \right) \times \left(\frac{100 - \% Vl}{86} \right)$$

gde je P - površina podpodparcele parcele, Mep - prinos zrna (masa) dobijen sa elementarne parcele, Muz - masa uzorka od 6 klipova, Mok - masa oklasaka uzorka od 6 klipova i % Vl - procenat vlage u zrnu u trenutku berbe.

e) Komponente prinosa zrna.

Na 20 slučajno odabranih klipova iz svake pod-podparcele mereni su: dužina klipa, broj redova zrna po klipu, broj zrna u redu, dubina zrna, masa hiljadu zrna i broj zrna po jedinici površine.

Masa hiljadu zrna računata je preko mase 200 zrna (merena iz tri ponavljanja) i za preračun na 14% vlage je primenjena sledeća formula:

$$\left(A - (\% Vl - 14) \times \frac{A}{100} \right) \times 5$$

gde je A – prosečna vrednost mase 200 zrna i % Vl – procenat vlage u trenutku merenja mase 200 zrna.

Broj zrna po jedinici površine dobijen je množenjem broja redova zrna po klipu, broja zrna u redu i broja biljaka po m^2 .

f) Hemijski sastav zrna.



Udeo ulja, proteina i skroba u zrnu (%) određen je putem NIR (*Near Infrared*) spektroskopije (Infratec 1241 Grain Analyser, FOSS TECATOR, Sweden). Infracrvena spektroskopija zasniva se na apsorpciji elektromagnetskog zračenja talasne dužine od 780 – 2500 nm. NIR je jednostavna i jeftina nedestruktivna metoda za koju ne treba veliki uzorak za analizu, kao ni posebna priprema uzorka, a njena preciznost je saglasna sa klasičnim hemijskim metodama. Instrument je prekalibriran za merenje hemijskog sastava zrna kukuruza, korišćenjem ANN (*Artificial Neural Network*) tehnike kalibracije.

g) Infekcija zrna vrstom *Fusarium verticillioides* i koncentracija fumonizina B₁ u zrnu.

U laboratorijskim uslovima ispitivan je stepen zaraženosti zrna kukuruza sa nekoliko vrsta gljiva. Međutim, utvrđeno je da se jedino *Fusarium verticillioides* javlja kod svakog genotipa, pa su zato nastavljena ispitivanja zaraženosti zrna samo na ovu vrstu. Od svakog uzorka analizirano je po 100 zrna. Zrna su ispirana dva sata pod česmenskom vodom, a onda su 10 sekundi sterilisana u 1% NaOCl rastvoru i isprana tri puta u destilovanoj vodi. Po pet zrna je raspoređeno u Petrijeve kutije na podlogu sa 2% agarom i inkubirano sedam dana u laboratorijskim uslovima. *F. verticillioides* je identifikovana na osnovu makroskopskih i mikroskopskih morfoloških svojstava koja su opisali Nelson i sar. (1993). Na osnovu broja zaraženih zrna određen je procenat intenziteta pojave ove vrste na zrnu ispitivanih genotipova.

Određena je koncentracija mikotoksina fumonizin B₁ u uzorcima zrna ispitivanih genotipova kukuruza. Za kvantitativnu analizu fuzariotoksina FB₁ uzorci su pripremljeni ekstrakcijom iz 10 g samlevenog zrna, koje je prethodno homogenizovano sa 2 g NaCl i 50 ml mešavine 70% rastvora metanola i destilovane vode (3:1). Koncentracija FB₁ određena je ELISA testom prema uputstvu proizvođača (Tecna S.r.l., Italy, Celer Test Kit).

4.2.2. Statistička analiza dobijenih podataka

Za sve dobijene podatke urađena je ANOVA za split-split plot dizajn u programu MSTAT-C (Michigan State University, 1989). Pojedinačna poređenja



rađena su preko t-testova u programu EXCEL 2010. Stepen korelacije između osobina rađen je preko Pearson-ovog koeficijenta korelacije u programu EXCEL 2010. Pirsonov koeficijent može imati vrednost od -1 do +1, a jačina korelacije određena je prema sledećoj skali:

$$0 < |r| < 0,3 \text{ -- slaba}$$

$$0,3 < |r| < 0,7 \text{ -- srednje jaka}$$

$$|r| > 0,7 \text{ -- jaka}$$

Opšta polinatorska sposobnost (OPS): analogna je opštoj kombinacionoj sposobnosti i predstavlja prosečan performans polinatora sa setom hibrida, dok se posebna kombinaciona sposobnost (PKS) odnosi na kombinacije majke i polinatora koje daju drugačiju prosečnu vrednost osobine nego što bi se očekivalo na osnovu OPS oca i prosečne vrednosti majke. OPS je računata za osobine: prinos zrna, masu hiljadu zrna i broj zrna po m², hemijski sastav i zaraženost zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju FB₁ putem inbred × tester analize (Singh i Choudhary, 1976). Korelacijom između osobina očeva *per se* i njihovih OPS hteli smo utvrditi koliko je na osnovu osobina hibrida polinatora moguće predvideti njihov efekat na osobine zrna majke.

Za podatke dobijene u procentima urađena je *arcsin* transformacija, kako bi se približili normalnoj raspodeli, prema sledećoj formuli:

$$\sin^{-1} \left(\sqrt{\frac{A}{100}} \right) \times \frac{180}{\pi}$$

gde je A vrednost osobine u %.

4.3. ANALIZA GENETIČKE DISTANCE IZMEĐU GENOTIPOVA

Za analizu genetičke distance između hibrida korišćeni su SSR markeri. Po 20 biljaka od svakog genotipa je posejano u saksije i gajeno do faze 3-4 lista u fitotronu. Za izolaciju genomske DNK korišćen je mini CTAB metod za izolaciju iz svežeg tkiva (Williams i sar., 1993). Mladi listovi su samleveni u tečnom azotu do pojave finog praha. Od svakog genotipa izmereno je po 0,1 g samlevenog tkiva i prebačeno u tube, nakon čega je dodato 10 V (zapremine) ekstrakcionog pufera i 4



V hloroformu. Sastav ekstrakcionog pufera bio je: 0,14 M sorbitol, 0,22 M Tris-HCl, 0,022 M EDTA, 0,8 M NaCl, 0,8% CTAB i 1% N-lauroylsarcosine. Uzorci su inkubirani u vodenom kupatilu 30 minuta na 55°C, a potom centrifugirani 5 minuta (14000 rpm). Supernantan je nakon centrifugiranja prebačen u novu tubu, dodato je 1,2 V hladnog izopropanola i uzorci su ostavljeni 10 minuta na ledu radi precipitacije. Potom su uzorci centrifugirani 10 minuta, nakon čega je supernatant odbačen, a pelet ispran u 1 ml 70% etanola. Nakon sušenja na sobnoj temperaturi, pelet je resuspendovan u 10 mM Tris-HCl (pH 7,5) i 0,1 mM EDTA. Koncentracija izolovane DNK merena je spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 260 nm.

Za reakciju amplifikacije pravljena je reakcionalna smeša od 25 µl koja je sadržala 1×PCR pufer, 2,4 mM MgCl₂, 0,8 mM dNTP, 0,5 µM F (*forward*) i R (*reverse*) prajmera, 1×BSA, 5 U *Taq* polimeraze i 50 ng DNK. Program amplifikacije bio je sledeći: inicijalna denaturacija na 95°C/5min, zatim 15 ciklusa denaturacije na 95°C/30sek, hibridizacija na 63,5°C/1min (-0,5°C/ciklus) i elongacija na 72°C/1min, potom još 22 ciklusa na 95°C/30sek, 56°C/1min i 72°C/1min. Dobijeni produkti su nakon razdvajanja na 8% poliakrilamidnom gelu (TBE elektroforetski pufer) obojeni etidijum-bromidom (0,5 µg/µl), posle čega su posmatrani na UV transiluminatoru i slikani aparatom Nikon D40. Kao marker za procenu veličine PCR produkata korišćen je 100bp DNA Ladder.

Ukupno 29 SSR prajmera je korišćeno za analizu genotipova. Oni su odabrani iz MaizeDB baze podataka na osnovu podataka o polimorfnosti dobijenih prethodnom analizom materijala sličnog genetičkog porekla i na osnovu raspoređenosti po hromozomima (bar jedan prajmer po hromozomu). Odabran je konačni set od 21 SSR prajmera (Tabela 4). Odbačeni su prajmeri koji nisu amplifikovali DNK kod svih genotipova, kao i oni koji su davali nejasne ili slabo vidljive trakice na gelu. Prisustvo/odsustvo traka na gelu prevedeno je u binarnu formu, tako da „1“ označava prisustvo specifičnog alela u genotipu, dok „0“ označava odsustvo istog.

**Tabela 4.** SSR markeri, njihova lokacija na mapi, sekvence prajmera i broj alela

SSR lokus	Bin	Sekvence prajmera	Br. alela	Polimorfni aleli	Polimorfnost (%)
umc 2235	1.06	5'-TCGTCCCAGTACCATGCCTC-3' 5'-GAACCCCTCTAGGCTCCGGTTC-3'	6	4	66,7
umc 1013	1.08	5'-TAATGTGTCCATACGGTGGTGG-3' 5'-AGCTGGCTAGTCTCAGGCACTC-3'	9	8	88,9
bngl 198	2.08	5'-TTTTGGTCTTGCTGAAAAATAAAA-3' 5'-GCTGGAGGCCCTACATTATTATCTC-3'	6	6	100,0
umc 1526	2.08	5'-TTTACAAGCGTGAGAGCAAGAAA-3' 5'-AACTGTCTGGAACAAGAACCGAG-3'	8	2	25,0
bngl 1350	3.08	5'-TGCTTCAGCGCATTAAACTG-3' 5'-TGCTCGTGTGAGTTCTCTACG-3'	7	7	100,0
umc 1109	4.10	5'-GCAACACAGGACCAAATCATCTCT-3' 5'-GTTCGGTCCGTAGAAGAACTCTCA-3'	7	7	100,0
phi 085	5.06	5'-AGCAGAACGGCAAGGGCTACT-3' 5'-TTTGGCACACCACGACGA-3'	3	2	66,7
phi 087	5.06	5'-GAGAGGAGGTGTTGTTGACACAC-3' 5'-ACAACCGGACAAGTCAGCAGATTG-3'	6	6	100,0
umc 1019	5.06	5'-CCAGCCATGTCTCTCGTTCT-3' 5'-AAACAAAGCACCATCAATTCCG-3'	7	4	57,0
phi 126	6.00	5'-TCCTGCTTATTGCTTTCGTCAT-3' 5'-GAGCTTGATATTCTTGTGGACA-3'	4	4	100,0
umc 1006	6.02	5'-AATCGCTTACTTGTAACCCACTTG-3' 5'-AGTTTCCGAGCTGCTTCTCT-3'	5	3	60,0
bngl 1443	6.05	5'-TACCGGAATCCTCTTGGTG-3' 5'-TTTGACAACCTCTTCCAGGG-3'	7	2	28,6
umc 1859	6.06	5'-ATATACATGTGAGCTGGTTGCCCT-3' 5'-GCATGCTATTACCAATCTCCAGGT-3'	8	3	37,5
umc 1695	7.00	5'-CAGGTAAATAACGACGCAGCAGAA-3' 5'-GTCCTAGGTTACATGCGTTGCTCT-3'	9	8	88,9
umc 1015	7.03	5'-CAGACACAAGCAGCAAAGCAAG-3' 5'-TCCGACTCCAAGAAGAGGGAGAA-3'	8	8	100,0
umc 1841	7.03	5'-CTGCATGATTCTCTGAACACG-3' 5'-ATGATGCACCCGCAGCTACTAC-3'	3	1	33,3
umc 1782	7.04	5'-TCGCATACCATGATCACTAGCTTC-3' 5'-CATTCACTCTTGCCAACCTGA-3'	7	6	85,7
umc 1040	9.01	5'-AGTAAGAGTGGGATATTCTGGAGTT-3' 5'-CTGCTGCAGACCATTGAAATAAC-3'	6	5	83,3
umc 1492	9.04	5'-GAGACCCAACCAAAACTAATAATCTCTT-3' 5'-GATTCAAACCAAAACACTTTCCCA-3'	3	2	66,7
umc 1507	10.04	5'-CGAACCTTGCTGTGTGTTATCAG-3' 5'-GCAAGTCAGGGAGTCCAAGAGAG-3'	5	4	80,0
umc 1827	10.04	5'-CCACCTCACAGGTGTTCTACGAC-3'	4	4	100,0
Σ			128	96	75
Prosek			6,1		

Parnim poređenjem uzorka na osnovu prisustva/odsustva alela izračunat je *Jaccard-ov* (J) koeficijent sličnosti. Pored njega izračunat je i *Simple Matching* (SM) koeficijent. Vrednosti genetičke distance dobijene su preko koeficijenata



sličnosti (od 1 se oduzima vrednost koeficijenta genetičke sličnosti). Koeficijent sličnosti po *Simple Match*-u uzima u obzir i alele koji se ne pojavljuju ni kod jednog od dva genotipa, dok to nije slučaj sa *Jaccard*-ovim koeficijentom. Po Balestre i sar. (2008) Simple Match koeficijent je pozdaniji za grupisanje genotipova na osnovu genetičke sličnosti. Formule za računanje pomenutih koeficijenata su sledeće:

$$J = \frac{a}{a + b + c}; SM = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

a - broj alela koji se pojavljuju kod oba genotipa; *b* - broj alela koji se pojavljuje samo kod prvog genotipa; *c* - broj alela koji se pojavljuje samo kod drugog genotipa i *d* - broj alela koji se ne pojavljuje ni kod jednog od genotipova.

Na osnovu dobijenih matrica sličnosti urađena je hijerarhijska klaster analiza po UPGMA (*Unweighted Pair-group Mean Arithmetic*) metodi u programu NTSYS-pc 2.1 (Rohlf, 2000).

4.4. RAČUNANJE EFEKATA U EKSPERIMENTU

1. Efekat CMS-a: razlika između prosečne vrednosti osobine izogeno oprăšenog sterilnog hibrida (oprašen polenom svog fertilnog analoga) i izogeno oprăšenog fertilnog hibrida - za hibride *per se*, odnosno razlika prosečne vrednosti osobine neizogeno oprăšenog sterilnog hibrida (oprašen polenom drugog hibrida) i neizogeno oprăšenog fertilnog hibrida sa istim oprăšivačem - za kombinacije sterilnih hibrida i neizogenih oprăšivača;

$$\text{CMS ef.} = \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{A}} - \text{Hyb}_{\text{ftA} \times \text{A}} \text{ (hibridi } per \text{ se})$$

$$\text{CMS ef.} = \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{B}} - \text{Hyb}_{\text{ftA} \times \text{B}} \text{ (kombinacije)}$$

Efekat CMS-a računat je za sledeće osobine: procenat poleglih i slomljenih biljaka, visina gornjeg klipa, ideo vlage u zrnu u trenutku berbe, prinos i komponente prinosa zrna, ideo ulja, proteina i skroba u zrnu i zdravstveno stanje zrna.

2. Efekat ksenija: razlika imedju prosečne vrednosti osobine fertilnog neizogeno oprăšenog hibrida (polenom nekog drugog hibrida, uz obavezno zakidanje metlica majke) i fertilnog izogeno oprăšenog hibrida (oprašen svojim polenom);

$$\text{Xenia eff.} = \text{Hyb}_{\text{ftA} \times \text{B}} - \text{Hyb}_{\text{ftA} \times \text{A}}$$



Pored ovoga računat je i efekat ksenija na sterilne verzije hibrida da bi se utvrdilo da li postoji razlika u ovom efektu u odnosu na fertilnu varijantu.

$$\text{Xenia eff.}_{(\text{st})} = \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{B}} - \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{A}}$$

Efekat ksenija računat je za sledeće osobine: udeo vlage u zrnu u trenutku berbe, prinos i masa hiljadu zrna, broj zrna po m², hemijski sastav i zdravstveno stanje zrna.

3. Plus-hibrid efekat: razlika između prosečne vrednosti osobine neizogeno oprašenog sterilnog hibrida i fertilnog izogeno oprašnog hibrida;

$$\text{PHEF} = \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{B}} - \text{Hyb}_{\text{ftA} \times \text{A}}$$

Plus-hibrid efekat računat je za sledeće osobine: udeo vlage u zrnu u trenutku berbe, prinos i komponente prinosa zrna, hemijski sastav i zdravstveno stanje zrna.

S obzirom na to da bi se Plus-hibrid efekat koristio u komercijalnoj proizvodnji gajenjem Plus-hibrid smeša (PHS), u kojima bi bilo 80% sterilnog hibrida i 20% hibrida polinatora, izračunata je potencijalna vrednost najvažnijih osobina u ovoj smeši samo radi poređenja sa konvencionalno gajenim ispitivanim hibridima. Obračun je vršen na sledeći način:

$$\text{PHS} = 0,8 \times \text{Hyb}_{\text{stA} \times \text{B}} + 0,2 \times \text{Hyb}_{\text{B}}$$

Pored ovoga, urađena su pojedinačna poređenja t-testovima za svaku osobinu između ZP 1ft tj. ZP 2ft koji su izogeno oprašeni nakon što su im zakinute metlice (majke u drugom i četvrtom setu) i običnih ZP 1ft, tj. ZP 2ft (očevi polinatori), kako bi se utvrdilo da li je došlo do promene u nekoj od osobina prilikom zakidanja metlica (negativan uticaj zbog eventualnog oštećenja/pozitivan zbog toga što zakinute biljke ne proizvode polen). Podaci o ispitivanim efektima su pouzdani ako nema značajne razlike u ovim poređenjima tj. osobina Hyb_{ftA×A} ne bi trebalo statistički da se razlikuje od osobine Hyb_A bez zakidanja metlica.



5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1. POUZDANOST EKSPERIMENTA, KONTROLA POLINACIJE I

SINHRONIZACIJA CVETANJA MAJČINSKOG I OČINSKOG HIBRIDA – ASI

Nijedna od osobina ispitivanih ZP 1ft i ZP 2ft sa zakinutim metlicama izogeno opašenih nije se statistički razlikovala od ZP 1ft i ZP 2ft kod kojih nisu zakidane metlice (podaci nisu prikazani), što ukazuje da zakidanje metlica nije uticalo na pouzdanost ispitivanih efekata u ovom eksperimentu.

Stopa neželjene polinacije belog hibrida nekim od hibrida žutog zrna bila je različita po godinama ispitivanja. Najviši procenat žutih zrna na belom eksperimentalnom hibridu bio je u 2009. godini, 11,58%, zatim 2010. godine 4,73% i samo 2,54% 2011. godine, što je prosečno 6,28% neželjene polinacije u čitavom eksperimentu.

U Tabeli 5 prikazane su prosečne vrednosti ASI majčinskih hibrida i hibrida polinatora za godine u kojima su se ispitivali.

Tabela 5. ASI majčinskih hibrida i hibrida polinatora (u danima)

majka	otac				
	ZP 1ft	ZP 2ft	ZP 3ft	ZP 4ft	ZP 5ft
ZP 1st	1,22	-0,67	0,44	0,00	-2,11
ZP 1ft	0,33	-1,11	0,67	0,56	-1,89
ZP 2st	3,56	2,22	4,00	3,67	1,00
ZP 2ft	4,11	2,00	4,33	3,44	1,00

Može se primetiti da nije bilo velike razlike u svilanju majčinskih i metličenju očinskih hibrida. ASI se kretao od -2,11 za ZP 1st × ZP 5ft do 4,33 za ZP 2ft × ZP 3ft. U većini kombinacija metličenje polinatora je bilo pre sviljanja majke. Samo je ZP 1 (sterilni i fertilni) svilao nešto pre ZP 2ft i ZP 5ft polinatora. Primećuje se razlika u ASI sterilne i fertilne varijante majki sa istim polinatom, koja je više izražena kod ZP 1 hibrida, ali nigde nije bila veća od jednog dana. ANOVA za ASI pokazala je značajan uticaj godine, majčinskog genotipa, kao i polinatora, međutim, tip citoplazme nije značajno uticao na ovu osobinu (podaci nisu prikazani).



5.2. EFEKAT CMS NA ISPITIVANE OSOBINE

5.2.1. Efekat CMS na visinu klipa, polegle i slomljene biljke i udeo vlage u zrnu u berbi

Tabela 6. Srednje vrednosti ispitivanih genotipova za osobine visina klipa, procenat poleglih i slomljenih biljaka i udeo vlage u zrnu u momentu berbe

Genotip	VK (cm)	PS (%)	VL (%)
ZP 1st × ZP 1ft	111,60	5,41	21,41
ZP 1st × ZP 2ft	109,13	4,47	21,63
ZP 1st × ZP 3ft	111,05	5,33	21,36
ZP 1st × ZP 4ft	111,91	4,12	21,69
ZP 1st × ZP 5ft	103,61	5,04	22,11
ZP 1ft × ZP 1ft	111,19	4,56	22,94
ZP 1ft × ZP 2ft	106,53	4,12	22,93
ZP 1ft × ZP 3ft	109,74	4,38	22,16
ZP 1ft × ZP 4ft	109,93	5,20	22,19
ZP 1ft × ZP 5ft	107,05	3,85	22,18
ZP 2st × ZP 1ft	111,52	1,75	22,49
ZP 2st × ZP 2ft	107,05	1,89	23,37
ZP 2st × ZP 3ft	110,89	1,62	22,19
ZP 2st × ZP 4ft	107,27	3,06	22,89
ZP 2st × ZP 5ft	106,33	3,43	23,25
ZP 2ft × ZP 1ft	115,99	0,98	23,14
ZP 2ft × ZP 2ft	118,05	2,86	24,05
ZP 2ft × ZP 3ft	114,19	2,97	23,94
ZP 2ft × ZP 4ft	115,75	3,52	23,28
ZP 2ft × ZP 5ft	114,00	1,30	23,97

VK- visina klipa; PS- procenat poleglih i slomljenih biljaka; VL- udeo vlage u zrnu u momentu berbe.

Rezultat ANOVA (Tabela 7) pokazuje da su se prikazane tri osobine statistički značajno razlikovale kroz godine. Takođe, majčinski genotip je imao značajan efekat na sve tri osobine, dok je tip citoplazme visoko značajno uticao na visinu klipa i udeo vlage u zrnu.



Tabela 7. Značajnost tretmana po ANOVA za visinu klipa, procenat poleglih i slomljenih biljaka i procenat vlage u zrnu u trenutku berbe

Izvor	ss	VK	PS	VL
Godina (G)	2	****	**	****
Hibrid majka (M)	1	***	***	****
G × M	2	ns	**	**
Citoplazma (C)	1	****	ns	****
G × C	2	ns	*	ns
M × C	1	****	ns	ns
G × M × C	2	ns	*	ns
Hibrid polinator (P)	4	ns	ns	ns
cv (%)		5,0	41,0	2,8

ss- stepeni slobode; VK – visina klipa; PS- polegle i slomljene bijke; VL – procenat vlage u zrnu u trenutku berbe; ns- nije statistički značajno; *- statistički značajno na nivou 0,1; **- statistički značajno na nivou 0,05; ***- statistički značajno na nivou 0,01 i ****- statistički značajno na nivou 0,001.

Pojedinačnim poređenjima utvrđeno je da CMS nije značajno uticala na visinu klipa ZP 1, kao ni na različite kombinacije ovog hibrida sa polinatorima (Tabela 8). Međutim, ZP 1st × ZP 5ft bio je u proseku za nešto više od 3 cm niži od ZP 1ft × ZP 5ft, dok su sve ostale kombinacije ovog hibrida bile više od svojih fertilnih analoga oprašenih istim polinatom. CMS je uticala na smanjenje visine klipa ZP 2 *per se*, kao i svih njegovih kombinacija sa različitim polinatorima. ZP 2st imao je u proseku za 11 cm niži klip od svog fertilnog analoga, dok je do značajnog smanjenja visine klipa došlo kod ZP 2st × ZP 1ft (4,47 cm), ZP 2st × ZP 4ft (8,48 cm) i ZP 2st × ZP 5ft (7,67 cm).

Efekat CMS na procenat poleglih i slomljenih biljaka ZP 1 *per se* bio je negativan u smislu da je povećao njihov broj, ali ovo nije bilo signifikantno (Tabela 8). Jedino je ZP 1 u kombinaciji sa ZP 4ft imao nešto niži procenat poleglih i slomljenih biljaka pod uticajem CMS. ZP 2st ima nešto niži procenat poleglih i slomljenih biljaka od svog fertilnog analoga, dok ZP 2st × ZP 5ft ima nešto višu vrednost ispitivane osobine od ZP 2ft × ZP 5ft.

Sterilnost nije značajno uticala na udeo vlage u zrnu u momentu berbe ni za jedan od ispitivanih hibrida, kao ni na jednu od njihovih kombinacija, mada treba



naglasiti da su oba hibrida *per se*, kao i njihove kombinacije sa polinatorima, pokazale tendenciju smanjenja procenat vlage u zrnu u momentu berbe pod uticajem CMS.

Tabela 8. CMS efekat na visinu klipa, procenat poleglih i slomljenih biljaka i vlagu zrna u momentu berbe

Genotip	VK (cm)	PS (%)	VL (%)
ZP 1st × ZP 1ft	0,41	0,85	-1,53
ZP 1st × ZP 2ft	2,60	0,35	-1,30
ZP 1st × ZP 3ft	1,31	0,95	-0,80
ZP 1st × ZP 4ft	1,98	-1,08	-0,50
ZP 1st × ZP 5ft	-3,44	1,19	-0,07
ZP 2st × ZP 2ft	-11,00 ***	-0,97 *	-0,68
ZP 2st × ZP 1ft	-4,47 *	0,77	-0,65
ZP 2st × ZP 3ft	-3,30	-1,35	-1,75
ZP 2st × ZP 4ft	-8,48 ****	-0,46	-0,39
ZP 2st × ZP 5ft	-7,67 **	2,14 **	-0,72

VK- visina klipa; PS- polegle i slomljene biljke; VL- udeo vlage u zrnu u momentu berbe; *- statistički značajno na nivou 0,1, **- statistički značajno na nivou 0,05, ***- statistički značajno na nivou 0,01 i ****- statistički značajno na nivou 0,001.



5.2.2. Efekat CMS na prinos i komponente prinosa zrna

Tabela 9. Srednje vrednosti ispitivanih genotipova za osobine prinos zrna, dužina klipa, broj redova zrna, broj zrna u redu, dubina zrna, masa 1000 zrna, broj zrna po m^2

Genotip	PZ (t/ha)	DK (cm)	BRZ	BZR	DZ (cm)	M1000Z (g)	BZM
ZP 1st × ZP 1ft	12,87	18,75	14,18	39,42	1,06	360,99	4157,18
ZP 1st × ZP 2ft	13,20	19,40	14,30	39,64	1,06	357,14	4215,26
ZP 1st × ZP 3ft	12,61	19,15	14,04	39,19	1,06	369,47	4098,30
ZP 1st × ZP 4ft	12,66	19,33	14,21	39,22	1,07	364,53	4143,65
ZP 1st × ZP 5ft	12,12	19,01	14,56	38,90	1,05	354,61	4205,76
ZP 1ft × ZP 1ft	12,92	18,69	14,37	38,72	1,06	360,71	4141,46
ZP 1ft × ZP 2ft	13,12	19,33	14,28	38,33	1,06	369,36	4076,05
ZP 1ft × ZP 3ft	12,61	18,96	14,05	39,46	1,03	367,09	4132,30
ZP 1ft × ZP 4ft	12,97	19,23	14,37	38,84	1,08	355,72	4153,38
ZP 1ft × ZP 5ft	12,22	19,14	14,82	39,61	1,05	346,72	4363,18
ZP 2st × ZP 1ft	12,99	18,43	14,25	37,73	1,11	357,08	3996,34
ZP 2st × ZP 2ft	13,14	18,69	14,08	38,19	1,08	364,76	3994,03
ZP 2st × ZP 3ft	13,31	18,74	13,77	37,99	1,08	368,95	3883,81
ZP 2st × ZP 4ft	13,12	19,20	14,10	37,72	1,10	363,44	3950,95
ZP 2st × ZP 5ft	12,44	18,66	14,75	37,63	1,10	358,77	4121,98
ZP 2ft × ZP 1ft	12,20	18,74	13,99	37,40	1,09	369,69	3922,14
ZP 2ft × ZP 2ft	12,53	18,24	13,88	36,71	1,05	350,86	3816,69
ZP 2ft × ZP 3ft	12,95	18,53	13,73	36,54	1,06	373,85	3781,92
ZP 2ft × ZP 4ft	12,86	18,44	14,00	36,57	1,07	355,91	3845,26
ZP 2ft × ZP 5ft	12,73	19,09	14,57	37,76	1,09	348,88	4139,47

PZ- prinos zrna; DK- dužina klipa; BRZ- broj redova zrna po klipu; BZR- broj zrna u redu po klipu; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m^2

Na prinos zrna ispitivanih hibrida visoko značajno je uticala godina ispitivanja, dok majčinski genotip nije imao uticaja (Tabela 10). Takođe, interakcija godina × majka bila je značajna. Citoplazma nije imala značajnog uticaja na prinos zrna, ali je zato bila značajna njena interakcija sa majčinskim genotipom, kao i interakcija ova dva faktora zajedno sa godinom ispitivanja, ukazujući da efekat



sterilnosti nije bio stabilan kod različitih genotipova, u različitim godinama ispitivanja.

Tabela 10. Značajnost tretmana po ANOVA za prinos zrna, dužinu klipa, broj redova zrna, broj zrna u redu, dubinu zrna, masu 1000 zrna i broj zrna po m²

Izvor	ss	PZ	DK	BRZ	BZR	DZ	M1000Z	BZM
Godina (G)	2	***	****	****	****	****	****	****
Hibrid majka (M)	1	ns	**	***	****	***	ns	****
G × M	2	**	ns	ns	***	***	***	**
Citoplazma (C)	1	ns	ns	ns	**	*	ns	**
G × C	2	ns	ns	**	ns	ns	ns	***
M × C	1	*	ns	***	ns	ns	ns	**
G × M × C	2	***	**	***	ns	**	**	ns
Hibrid polinator (P)	4	*	ns	****	ns	*	****	****
G × P	8	ns	**	****	ns	****	**	****
M × P	4	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
cv (%)	8,0	3,78	2,03	4,33	3,22	4,69	5,27	

ss- stepeni slobode; PZ- prinos zrna; DK- dužina klipa; BRZ- broj redova zrna po klipu; BZR- broj zrna u redu po klipu; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m²; ns- nije statistički značajno; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01; ****- značajno na nivou 0,001.

Dužina klipa je bila pod signifikantim uticajem godine ispitivanja, kao i majčinskog genotipa. Godina, kao i majka su, takođe, značajno uticali na broj redova zrna po klipu. Iako citoplazma nije imala statistički značajan efekat na ovu osobinu, interakcija godina × citoplazma, majka × citoplazma, kao i godina × majka × citoplazma interakcije su bile značajne, ukazujući na nestabilan efekat sterilnosti pod uticajem godine i majčinskog genotipa. Osobina broj zrna u redu bila je pod značajnim uticajem godine i majčinskog genotipa, a bila je značajna i interakcija ova dva faktora. Citoplazma je, takođe, imala signifikantan efekat na ovu osobinu. Godina i majčinski genotip su takođe značajno uticali i na dubinu zrna, dok je citoplazma uticala sa manjom značajnošću. Jedino je godina, od glavnih faktora, uticala na masu hiljadu zrna, dok su svi faktori značajno uticali na osobinu broj zrna po jedinici površine.



Tabela 11. Efekat CMS na prinos zrna, dužinu klipa, broj redova zrna po klipu, broj zrna u redu, dubinu zrna, masu hiljadu zrna i broj zrna po m²

Genotip	PZ (t/ha)	DK (cm)	BRZ	BZR	DZ (cm)	M1000Z (g)	BZM
ZP 1st × ZP 1ft	-0,05	0,06	-0,19	0,70	0,00	0,08	15,72
ZP 1st × ZP 2ft	0,08	0,07	0,02	1,31	0,00	3,31	139,21
ZP 1st × ZP 3ft	-0,01	0,19	-0,02	-0,27	0,03	0,64	-34,00
ZP 1st × ZP 4ft	-0,31	0,10	-0,16	0,38	0,00	2,42	-9,73
ZP 1st × ZP 5ft	-0,10	-0,12	-0,27	-0,71	0,00	2,23	-157,43 *
ZP 2st × ZP 2ft	0,61	0,45	0,20	1,48 **	0,03	13,90 *	177,34 **
ZP 2st × ZP 1ft	0,79 *	-0,31	0,26 *	0,33	0,02	-12,98 *	74,20
ZP 2st × ZP 3ft	0,36	0,21	0,03	1,45 *	0,02	-4,91	101,90
ZP 2st × ZP 4ft	0,26	0,76 *	0,10	1,15 *	0,03	7,53	105,70
ZP 2st × ZP 5ft	-0,29	-0,43	0,18	-0,13	0,00	9,89	-17,49

PZ- prinos zrna; DK- dužina klipa; BRZ- broj redova zrna po klipu; BZR- broj zrna u redu po klipu; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m²; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05.

Iako ANOVA nije pokazala značajan efekat citoplazme na prinos zrna, iz pojedinačnih poređenja se vidi da je ona na dva ispitivana hibrida *per se* i njihove kombinacije sa hibridima polinatorima imala različit uticaj (Tabela 11). Samo kombinacija ZP 1st × ZP 2ft je imala pozitivan efekat sterilnosti u odnosu na ostale kombinacije ZP 1st sa drugim polinatorima. ZP 2st je imao u proseku za oko 0,6 t/ha viši prinos zrna od svog fertilnog analoga, bez značajnosti, dok je ZP 2st × ZP 1ft imao značajno viši prinos, za oko 0,8 t/ha od ZP 2ft × ZP 1ft.

CMS je pozitivno uticala na osobinu dužina klipa ZP 1 i ZP 2 *per se*, ali opet ne značajno. Jedino je kod ZP 2st × ZP 4ft, u odnosu na ZP 2ft × ZP 4ft, došlo do signifikantnog povećanja dužine klipa. Broj redova zrna sterilnih hibrida nije se značajno promenio u odnosu na njihove fertilne, dok je jedina kombinacija na koju je sterilnost značajno uticala za ovu osobinu bila ZP 2st × ZP 1ft (1,48). Kod ZP 2st došlo je do značajnog povećanja broja zrna u redu u odnosu na ZP 2ft. Takođe, ZP 2st × ZP 3ft i ZP 2st × ZP 4ft su imale značajno veći broj zrna u redu u odnosu na svoje fertilne analoge opršene istim polinatom. Dubina zrna nije bila pod značajnim efektom sterilnosti. CMS je evidentno jače uticala na osobinu masa



hiljadu zrna kod ZP 2 hibrida *per se*, jer je kod njega došlo do značajnog povećanja vrednosti ove osobine za 13,9 g pod uticajem sterilnosti. Međutim, kod ZP 2st × ZP 1ft došlo je do značajnog smanjenja mase hiljadu zrna u odnosu na ZP 2ft × ZP 1ft (-12,98 g). Broj zrna po jedinici površine je bio pod pozitivnim uticajem sterilnosti kod oba hibrida, ali samo kod ZP 2st je to povećanje bilo statistički signifikantno i iznosilo je nešto više od 170 zrna po m². Kod ZP 1st × ZP 5ft u odnosu na ZP 1ft × ZP 5ft došlo je do značajnog smanjenja vrednosti ove osobine i to za oko 150 zrna po m². Iako ne značajno, kod ZP 1st × ZP 2ft je došlo do povećanja broja zrna za skoro 140 u odnosu na ZP 1ft × ZP 2ft.

5.2.3. Efekat CMS na hemijski sastav zrna

Tabela 12. Srednje vrednosti ispitivanih genotipova za udeo ulja, proteina i skroba u zrnu

Genotip	Ulje (%)	Proteini (%)	Skrob (%)
ZP 1st × ZP 1ft	4,47	8,99	70,43
ZP 1st × ZP 2ft	4,28	9,11	70,71
ZP 1st × ZP 3ft	4,15	8,84	70,90
ZP 1st × ZP 4ft	4,50	9,30	70,45
ZP 1st × ZP 5ft	4,24	9,29	70,77
ZP 1ft × ZP 1ft	4,44	8,93	70,56
ZP 1ft × ZP 2ft	4,32	8,81	70,59
ZP 1ft × ZP 3ft	4,25	8,68	70,83
ZP 1ft × ZP 4ft	4,47	8,82	70,55
ZP 1ft × ZP 5ft	4,32	9,08	70,68
ZP 2st × ZP 1ft	4,32	8,61	70,99
ZP 2st × ZP 2ft	4,25	8,82	71,05
ZP 2st × ZP 3ft	4,18	8,90	71,23
ZP 2st × ZP 4ft	4,29	8,59	71,17
ZP 2st × ZP 5ft	4,00	8,46	71,53
ZP 2ft × ZP 1ft	4,30	8,99	70,83
ZP 2ft × ZP 2ft	4,04	8,73	71,29
ZP 2ft × ZP 3ft	4,18	8,64	71,28
ZP 2ft × ZP 4ft	4,27	8,68	70,81
ZP 2ft × ZP 5ft	3,99	8,46	71,42



Faktor godine veoma značajno je uticao na udeo u zrnu sve tri ispitivane hemijske komponente (Tabela 13). Majka, kao i interakcija majka × godina pokazuju značajan uticaj na udeo ulja u zrnu, dok citoplazma i interakcije citoplazme sa majčinskim genotipom i godinom ispitivanja nisu značajni za ovu osobinu. Proteini i skrob su, takođe, bili pod signifikantnim uticajem majčinskog genotipa, a za obe osobine je signifikantna i interakcija majka × godina. Tip citoplazme slabo značajno utiče na sadržaj proteina u zrnu, dok je interakcija citoplazme i majčinskog genotipa takođe značajna.

Tabela 13. Značajnost tretmana po ANOVA za hemijski sastav zrna

Izvor	ss	Ulje	Proteini	Skrob
Godina (G)	2	****	****	****
Hibrid majka (M)	1	***	****	****
G × M	2	**	****	****
Citoplazma (C)	1	ns	*	ns
G × C	2	ns	ns	ns
M × C	1	ns	**	ns
G × M × C	2	ns	ns	***
Hibrid polinator (P)	4	****	ns	****
G × P	8	***	****	ns
M × P	4	***	***	ns
cv (%)		1,91	2,74	0,44

ns- nije statistički značajno; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01; ****- značajno na nivou 0,001.

Ako se posmatra efekat CMS na udeo ulja u zrnu ZP 1 i ZP 2 *per se*, uočava se da je samo na drugi ispitivani hibrid sterilnost značajno uticala i to povećanjem od 0,21% (Tabela 14). Jedina kombinacija hibrida i polinadora kod oba hibrida na koju je sterilnost značajno uticala za ovu osobinu bila je ZP 1ft × ZP 4ft, povećanjem od 0,18%. Iako je kod oba hibrida *per se* došlo do povećanja udela proteina u zrnu, ono je bilo bez značajnosti. Do signifikantnog povećanja udela proteina u zrnu došlo je kod ZP 1st × ZP 4ft u odnosu na svog fertilnog analoga oprašenog istim hibridom. Ni kod jednog od hibrida *per se*, kao ni kod jedne od njihovih kombinacija sa polinatorom, nije došlo do značajnijeg efekta CMS na procenat



REZULTATI ISTRAŽIVANJA

skroba u zrnu. Međutim, primećuje se da se sadržaj skroba u zrnu kod oba hibrida *per se* smanjio pod uticajem CMS.

Tabela 14. Efekat CMS na udeo ulja, proteina i skroba u zrnu

Genotip	Ulje (%)	Proteini (%)	Skrob (%)
ZP 1st × ZP 1ft	0,03	0,07	-0,14
ZP 1st × ZP 2ft	-0,03	0,30	0,12
ZP 1st × ZP 3ft	-0,09	0,16	0,07
ZP 1st × ZP 4ft	0,18 *	0,48 *	-0,10
ZP 1st × ZP 5ft	-0,08	0,21	0,09
ZP 2st × ZP 2ft	0,21 **	0,10	-0,24
ZP 2st × ZP 1ft	0,02	-0,38	0,17
ZP 2st × ZP 3ft	-0,01	0,27	-0,05
ZP 2st × ZP 4ft	0,03	-0,09	0,35
ZP 2st × ZP 5ft	0,01	0,01	0,11

*- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05.



5.2.4. Efekat CMS na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Tabela 15. Srednje vrednosti ispitivanih genotipova za infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Genotip	FUZ (%)	FB ₁ (ppm)
ZP 1st × ZP 1ft	18,50	1,49
ZP 1st × ZP 2ft	16,83	2,06
ZP 1st × ZP 3ft	25,33	1,14
ZP 1st × ZP 4ft	18,00	1,20
ZP 1st × ZP 5ft	38,00	2,58
ZP 1ft × ZP 1ft	8,83	1,67
ZP 1ft × ZP 2ft	28,83	4,88
ZP 1ft × ZP 3ft	26,83	3,11
ZP 1ft × ZP 4ft	17,50	1,98
ZP 1ft × ZP 5ft	24,00	3,53
ZP 2st × ZP 1ft	29,17	1,77
ZP 2st × ZP 2ft	30,53	1,58
ZP 2st × ZP 3ft	29,17	3,80
ZP 2st × ZP 4ft	39,42	2,04
ZP 2st × ZP 5ft	34,05	5,52
ZP 2ft × ZP 1ft	48,20	2,52
ZP 2ft × ZP 2ft	27,93	0,67
ZP 2ft × ZP 3ft	45,62	0,94
ZP 2ft × ZP 4ft	31,58	1,49
ZP 2ft × ZP 5ft	56,83	3,04

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu.

Uočava se da je godina imala značajan efekat na zaraženost zrna vrstom *F. verticillioides* i koncentraciju mikotoksina FB₁ u zrnu, dok je majčinski genotip ima značajan uticaj samo na prvu osobinu (Tabela 16). Interakcija godina × majka, kao i majka × citoplazma bile su značajne za kontaminaciju zrna sa FB₁. Međutim, treba naglasiti da su koeficijenti varijacije za ove dve osobine prilično visoki, posebno za osobinu sadržaj mikotoksina u zrnu.



Tabela 16. Značajnost tretmana po ANOVA za infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Izvor	ss	FUZ	FB ₁
Godina (G)	2	**	****
Hibrid majka (M)	1	**	ns
G × M	2	ns	**
Tip citoplazme (C)	1	ns	ns
G × C	2	ns	ns
M × C	1	ns	**
G × M × C	2	ns	ns
Hibrid polinator (P)	4	ns	ns
cv (%)		44,97	71,34

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu; ns- nije statistički značajno; **- značajno na nivou 0,05; ****- značajno na nivou 0,001.

CMS je negativno uticala na ispitivane majke *per se*, ali samo na ZP 2 značajno, jer je u proseku uticala na povećanje zaraženosti zrna ovom vrstom od 2,6% (Tabela 17). CMS je kod ZP 1st × ZP 3ft kombinacije pozitivno značajno uticala na ovu osobinu, smanjenjem zaraze od 1,5%. ZP 2st oprašen sa ZP 3ft ima značajno niži stepen zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* od ZP 2ft × ZP 3ft. Kod ZP 2st oprašenog sa ZP 5ft došlo je do smanjenja zaraženosti zrna od 22,78% pod uticajem CMS, ali ne značajno. CMS je pozitvno uticala na koncentraciju FB₁ u zrnu ispitivanog ZP 1 *per se*. Takođe, sve kombinacije ovog hibrida sa hibridima polinatorima su imale manju kontaminaciju zrna ovim mikotoksinom u odnosu na svoje fertilne analoge oprašene istim polinatorm. ZP 2st *per se* je imao nešto višu koncentraciju FB₁ u zrnu, ali ne značajno. Kod ZP 2st × ZP 5ft je došlo do značajnog povećanja koncentracije FB₁ u zrnu u odnosu na ZP 2ft × ZP 5ft i to za 2,48 ppm.



Tabela 17. Efekat CMS na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Genotip	FUZ (%)	FB ₁ (ppm)
ZP 1st × ZP 1ft	9,67	-0,18 ***
ZP 1st × ZP 2ft	-12,00	-2,83
ZP 1st × ZP 3ft	-1,50 *	-1,97
ZP 1st × ZP 4ft	0,50	-0,78
ZP 1st × ZP 5ft	14,00	-0,95 *
ZP 2st × ZP 2ft	2,60 **	0,91
ZP 2st × ZP 1ft	-19,03	-0,75 *
ZP 2st × ZP 3ft	-16,45 *	2,86
ZP 2st × ZP 4ft	7,84	0,55
ZP 2st × ZP 5ft	-22,78	2,48 *

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

5.3. EFEKAT KSENIJA NA ISPITIVANE OSOBINE

5.3.1. Efekat ksenija na vlagu zrna u berbi, prinos i komponente prinosa

Polinator nije imao uticaja na udeo vlage u zrnu u momentu berbe (Tabela 7). Pojedinačnim poređenjima je, takođe, utvrđeno da ni jedan hibrid oprašivač nije imao značajan efekat na ovu osobinu, ali treba naglasiti da je kod oba hibrida došlo do smanjenja vlage u zrnu u trenutku berbe pod uticajem stranog oprašivača, a smanjenje se kretalo od 0,01 do 0,91% (Tabela 18).

Iz ANOVA-e za prinos i komponente prinosa zrna kukuruza (Tabela 10) uočava se da ksenija ima slabo značajan efekat na prinos zrna i dubinu zrna, kao i masu hiljadu zrna i broj zrna po jedinici površine. Interakcije polinatora sa ostalim faktorima nisu prikazane u tabeli jer nisu bile značajne ni za jednu od osobina.

Jedino je ZP 5ft uticao značajno na prinos prvog ispitivanog hibrida i to negativno, jer je u proseku došlo do smanjenja od 0,7 t/ha (Tabela 18). Sa druge strane, kod ZP 2ft oprašenog sa ZP 5ft došlo je do povećanja prinosa, doduše za samo 0,2 t/ha u proseku, bez značajnosti. ZP 3ft je, takođe, imao različit uticaj na prinos zrna dva hibrida, negativan na prvi i pozitivan na drugi.



Ksenije skoro da nisu imale nikakav efekat na dubinu zrna ZP 1ft, dok su ZP 1ft i ZP 5ft kao polinatori značajno pozitivno uticali na ovu osobinu kod hibrida ZP 2ft. Ksenije nisu imale značajan uticaj na masu hiljadu zrna ZP 1ft, iako je došlo do smanjenja za skoro 14 g pod uticajem ZP 5ft. Međutim, ZP 1ft i ZP 3ft su signifikantno uticali na ovu osobinu kod ZP 2ft i došlo je do povećanja mase hiljadu zrna za skoro 19 g, odnosno 23 g. ZP 5ft je značajno uticao na broj zrna po m² kod oba hibrida, dok ostali polinatori nisu imali značajan efekat na ovu osobinu.

Tabela 18. Efekat ksenija na vlagu zrna, prinos i komponente prinosa zrna ZP 1ft i ZP 2ft

Genotip	VL (%)	PZ (t/ha)	DZ (mm)	M1000Z (g)	BZM
ZP 1ft × ZP 2ft	-0,01	0,20	0,00	8,65	-65,41
ZP 1ft × ZP 3ft	-0,78	-0,31	-0,03	6,38	-9,16
ZP 1ft × ZP 4ft	-0,75	0,05	0,02	-4,99	11,92
ZP 1ft × ZP 5ft	-0,76	-0,71 *	-0,01	-13,99	221,72 *
ZP 2ft × ZP 1ft	-0,91	-0,33	0,04 **	18,99 **	105,45
ZP 2ft × ZP 3ft	-0,11	0,42	0,01	23,17 **	-34,78
ZP 2ft × ZP 4ft	-0,77	0,33	0,03	4,62	28,57
ZP 2ft × ZP 5ft	-0,08	0,20	0,04 **	-1,80	322,78 ***

VL- vлага zrna; PZ- prinos zrna; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m²; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

5.3.2. Efekat ksenija na hemijski sastav zrna

Hibrid polinator ima visoko značajan efekat na udeo ulja i skroba u zrnu (Tabela 13). Interakcije godina × polinator i majka × polinator su, takođe, značajne za udeo ulja i proteina u zrnu.

Primećuje se da su ksenije imale uglavnom negativan efekat na udeo ulja u zrnu hibrida ZP 1ft, dok je taj efekat bio pozitivan kod ZP 2ft (Tabela 19). Ksenija ZP 3ft je značajno negativno uticala na ovu osobinu kod ZP 1ft, gde je došlo do smanjenja od 0,19%. Došlo je do značajnog povećanja sadržaja ulja u zrnu kod ZP 2ft pod uticajem ZP 1ft (0,26%), ZP 3ft (0,14%) i ZP 4ft (0,22%). Zanimljivo je da je ZP 3ft značajno uticao na ulje u zrnu kod oba hibrida, ali različito. Ksenija je



uglavnom imala negativan efekat na sadržaj proteina u zrnu kod oba hibrida, ali ovo nije bilo značajno ni za jedan od polinatora. ZP 3ft je uticao na povećanje skroba u zrnu za 0,26% kod ZP 1ft, ali ne značajno. ZP 1ft i ZP 4ft su značajno negativno uticali na ovu osobinu kod ZP 2ft, gde se udeo skroba u zrnu smanjio za 0,47%, odnosno 0,48%.

Tabela 19. Efekat ksenija na udeo ulja, proteina i skroba u zrnu ZP 1ft i ZP 2ft

Genotip	Ulje (%)	Proteini (%)	Skrob (%)
ZP 1ft × ZP 2ft	-0,12	-0,11	0,03
ZP 1ft × ZP 3ft	-0,19 *	-0,24	0,26
ZP 1ft × ZP 4ft	0,03	-0,09	-0,02
ZP 1ft × ZP 5ft	-0,12	0,17	0,12
ZP 2ft × ZP 1ft	0,26 ***	0,27	-0,47 *
ZP 2ft × ZP 3ft	0,14 *	-0,09	-0,01
ZP 2ft × ZP 4ft	0,22 **	-0,04	-0,48 *
ZP 2ft × ZP 5ft	-0,06	-0,26	0,13

*- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

5.3.3. Efekat ksenija na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Hibrid polinator ne utiče značajno na zaraženost zrna sa *F. verticillioides*, kao ni na koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu (Tabela 16). Takođe, nijedna interakcija polinatora sa nekim od faktora za ove dve osobine nije značajna (podaci nisu prikazani). Međutim, pojedinačnim poređenjima se dobijaju značajni efekti ksenija na obe osobine ispitivanih hibrida (Tabela 20).

Uočljivo je da se pod uticajem ksenija procenat zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* oba hibrida povećava. Svi polinatori imaju značajan efekat na procenat zaraženosti ovom vrstom na hibrid ZP 1ft, gde je došlo do povećanja vrednosti ove osobine od 8,67% do 20%, u zavisnosti od polinatora. Sa druge strane, ZP 5ft je u proseku za 28,9%, a ZP 1ft u proseku za 20,27% povećao procenat zaraženosti zrna ZP 2ft ovom vrstom u odnosu na izogeno opršeni ZP 2ft.



Ksenije su uticale i na povećanje koncentracije fumonizina B₁ u zrnu kod oba hibrida, s tim što nije bilo značajnog efekta kod ZP 1ft. Međutim, koncentracija FB₁ u zrnu ZP 2ft se statistički značajno povećala pod uticajem ZP 1ft (1,85 ppm), ZP 4ft (0,82 ppm) i ZP 5ft (2,37 ppm).

Tabela 20. Efekat ksenija na infekciju zrna sa *F. verticilliodes* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu ZP 1ft i ZP 2ft

Genotip	FUZ (%)	FB ₁ (ppm)
ZP 1ft × ZP 2ft	20,0 **	3,22
ZP 1ft × ZP 3ft	18,0 *	1,44
ZP 1ft × ZP 4ft	8,67 ***	0,31
ZP 1ft × ZP 5ft	15,17 *	1,86
ZP 2ft × ZP 1ft	20,27 **	1,85 *
ZP 2ft × ZP 3ft	17,69 *	0,27
ZP 2ft × ZP 4ft	3,65	0,82 **
ZP 2ft × ZP 5ft	28,90 **	2,37 **

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticilliodes*; FB₁- koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

5.3.4. Razlika u efektu ksenija na ispitivane osobine zrna između sterilnih i fertilnih verzija ZP 1 i ZP 2

Za razliku od ksenija na sadržaj vlage zrna u berbi fertilnog ZP 1 (Tabela 18), ksenije hibrida ZP 2ft, ZP 4ft i ZP 5ft su uticale na povećanje vrednosti ove osobine kod ZP 1st, međutim polinatori ni na jedan od sterilnih hibrida nisu uticali značajno (Tabela 21). Ksenije su imale sličan efekat na prinos zrna sterilnog i fertilnog ZP 1 hibrida, dok su se ksenije na ovu osobinu hibrida ZP 2ft razlikovale između sterilne i fertilne verzije. Primećuje se da je ZP 5ft smanjio prinos ZP 2st, dok to nije slučaj sa fertilnom verzijom ovog hibrida. Za razliku od ZP 2ft, kod ZP 2st nije došlo do značajnog povećanja dubine zrna pod uticajem ZP 1ft i ZP 5ft. Isto tako, polinatori ZP 1ft i ZP 3ft nisu značajno uticali na masu hiljadu zrna ZP 2st, dok je ovaj efekat na ZP 2ft bio značajan. Ksenija ZP 5ft utiče pozitivno na broj zrna po m² obe verzije oba hibrida, međutim, ima statistički značajniji uticaj na fertilne verzije ZP 1ft i ZP 2ft.



Tabela 21. Efekat ksenija na vlagu zrna, prinos i komponente prinosa zrna hibrida ZP 1st i ZP 2st

Genotip	VL (%)	PZ (t/ha)	DZ (mm)	M1000Z (g)	BZM
ZP 1st × ZP 2ft	0,22	0,32	0,00	-3,85	58,07
ZP 1st × ZP 3ft	-0,05	-0,27	0,01	8,48	-58,88
ZP 1st × ZP 4ft	0,28	-0,21	0,02	3,54	-13,53
ZP 1st × ZP 5ft	0,70	-0,76 *	-0,01	-6,38	48,57
ZP 2st × ZP 1ft	-0,88	-0,15	0,03	-7,68	2,31
ZP 2st × ZP 3ft	-1,18	0,17	-0,01	4,19	-110,21
ZP 2st × ZP 4ft	-0,48	-0,02	0,01	-1,32	-43,07
ZP 2st × ZP 5ft	-0,12	-0,71	0,02	-5,99	127,95 *

VL- vлага zrna; PZ- prinos zrna; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m²; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

Tabela 22. Efekat ksenija na hemijski sastav zrna hibrida ZP 1st i ZP 2st

Genotip	Ulje (%)	Proteini (%)	Skrob (%)
ZP 1st × ZP 2ft	-0,18 **	0,13	0,29
ZP 1st × ZP 3ft	-0,31 ***	-0,14	0,48 *
ZP 1st × ZP 4ft	0,03	0,31	0,02
ZP 1st × ZP 5ft	-0,23 **	0,30	0,34
ZP 2st × ZP 1ft	0,07	-0,21	-0,30
ZP 2st × ZP 3ft	-0,08	0,09	0,18
ZP 2st × ZP 4ft	0,04	-0,23	0,12
ZP 2st × ZP 5ft	-0,25 **	-0,36	0,48 ***

*- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

Razlika u efektu ksenija na udeo ulja u zrnu između sterilne i fertilne verzije ZP1 i ZP 2 je evidentna. Osim ksenija ZP 4ft, ksenije ostalih polinatora statistički značajnije utiču na ZP 1st nego na ZP 1ft (Tabele 19 i 22). Kod ZP 2 se efekti na ovu osobinu ne razlikuju samo po stepenu značajnosti, već i po načinu uticaja. Ksenije na sadržaj proteina u zrnu sterilnih verzija ispitivanih hibrida nisu bile značajne, kao ni kod fertilnih. ZP 3ft značajno utiče na udeo skroba u zrnu ZP 2st, što nije bio



slučaj sa ZP 2ft. Za razliku od ZP 2ft, ZP 1ft i ZP 3ft ne utiču značajno na ZP 2 st, dok je ZP 5ft uticao značajno na sadržaj skroba ZP 2ft povećanjem za 0,48%, što nije bio slučaj sa ZP 2st.

Ksenija statistički značajnije utiče na zaraženost zrna sa *F. verticillioides* fertilnih ZP 1 i ZP 2 nego sterilnih. Jedino je ksenija ZP 5ft značajno uticala na ZP 1st i to negativno (Tabela 23) povećanjem zaraženosti od 19,5%, za razliku od ZP 1ft gde su svi polinatori značajno negativno uticali na ovu osobinu (Tabela 20). Sa druge strane, nijedna ksenija nije imala značajan uticaj na ovu osobinu kod ZP 2st, dok su tri od četiri polinatora imala značajan uticaj na ovu osobinu kod ZP 2 ft. Nijedan pollinator nije statistički značajno uticao na ZP 2st, dok su ZP 1ft, ZP 4ft i ZP 5ft imali značajan uticaj na kontaminaciju zrna FB₁ kod fertилне verzije ovog hibrida. Ksenije nisu značajno uticale na sterilni ZP 1, iako se uočava da je ovaj efekat u odnosu na fertилну verziju bio slabiji.

Tabela 23. Efekat ksenija na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu ZP 1st i ZP 2st

Genotip	FUZ (%)	FB ₁ (ppm)
ZP 1st × ZP 2ft	-1,67	0,57
ZP 1st × ZP 3ft	6,83	-0,35
ZP 1st × ZP 4ft	-0,50	-0,28
ZP 1st × ZP 5ft	19,50 **	1,09
ZP 2st × ZP 1ft	-1,37	0,20
ZP 2st × ZP 3ft	-1,37	2,23
ZP 2st × ZP 4ft	8,88	0,46
ZP 2st × ZP 5ft	0,52	3,94

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu;

**- značajno na nivou 0,05.

5.4. PLUS-HIBRID EFEKAT NA ISPITIVANE OSOBINE

5.4.1. Plus-hibrid efekat na sadržaj vlage u zrnu, prinos i komponente prinosa zrna

Nijedna Plus-hibrid kombinacija nije se statistički razlikovala od svog fertilenog analoga izogeno opršenog za osobinu sadržaj vlage u zrnu u momentu



berbe (Tabela 24). Međutim, sve Plus-hibrid kombinacije oba hibrida imale su u proseku niži ideo vlage u zrnu od svojih fertilnih analoga izogeno opršenih, a smanjenje se kretalo od 0,83% do 1,94%.

Tri od četiri Plus-hibrid kombinacije hibrida ZP 1 imale su niži prinos zrna od svojih fertilnih analoga izogeno opršenih (Tabela 24), međutim, jedino je kod ZP 1st × ZP 5ft došlo do signifikantnog smanjenja od skoro pola tone. Nijedna kombinacija drugog ispitivanog hibrida nije imala značajno različit prinos od ZP 2ft × ZP 2ft i samo je kod jedne došlo do smanjenja vrednosti osobine od 0,33 t/ha (ZP 2st × ZP 1ft). Dok je Plus-hibrid efekat na dubinu zrna ZP 1 *per se* bio neznatan, ZP 2st × ZP 4ft i ZP 2st × ZP 5ft su imali značajno povećanje vrednosti ove osobine. ZP 2st × ZP 3ft je imala za 18,08 g veću masu hiljadu zrna u odnosu na fertilni ZP 2 izogeno opršen, dok nijedna kombinacija ZP 1 nije pokazala značajan efekat na ovu osobinu. Takođe, nije bilo značajne promene u broju zrna po m² kod prvog hibrida, dok su dve Plus-hibrid kombinacije ZP 2 pokazale pozitivan efekat na ovu osobinu povećanjem broja za 179,65 kod ZP 2st × ZP 1ft i 305,29 kod ZP 2st × ZP 5ft.

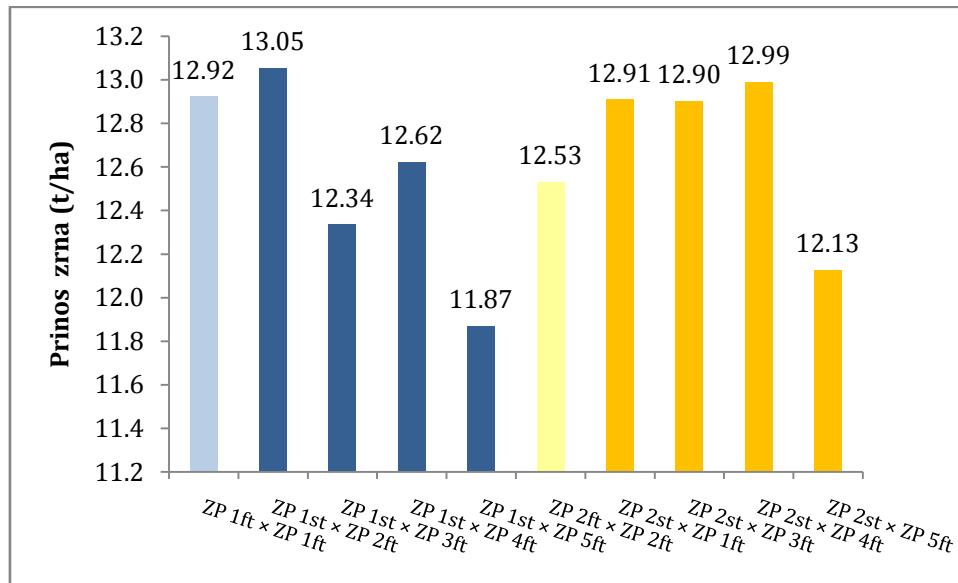
Tabela 24. Plus-hibrid efekat na sadržaj vlage u zrnu, prinos i komponente prinosa zrna

Plus hibrid	VL (%)	PZ (t/ha)	DZ (mm)	M1000Z (g)	BZM
ZP 1st × ZP 2ft	-1,31	0,28	0,00	-3,57	73,79
ZP 1st × ZP 3ft	-1,58	-0,32	0,00	8,76	-43,16
ZP 1st × ZP 4ft	-1,25	-0,30	0,01	3,82	2,19
ZP 1st × ZP 5ft	-0,83	-0,80 *	-0,01	-6,10	64,29
ZP 2st × ZP 1ft	-1,56	-0,33	0,06	6,21	179,65 *
ZP 2st × ZP 3ft	-1,86	0,42	0,03	18,08 * 67,12	
ZP 2st × ZP 4ft	-1,06	0,33	0,05 **	12,57	134,26
ZP 2st × ZP 5ft	-1,94	0,20	0,06 **	7,91	305,29 ***

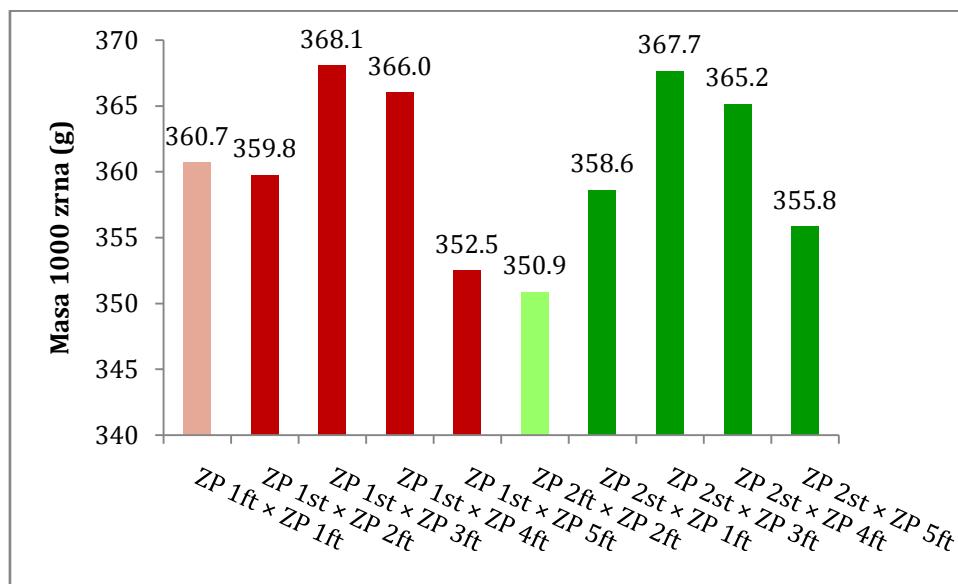
VL- vlaga zrna; PZ- prinos zrna; DZ- dubina zrna; M1000Z- masa hiljadu zrna; BZM- broj zrna po m²; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.



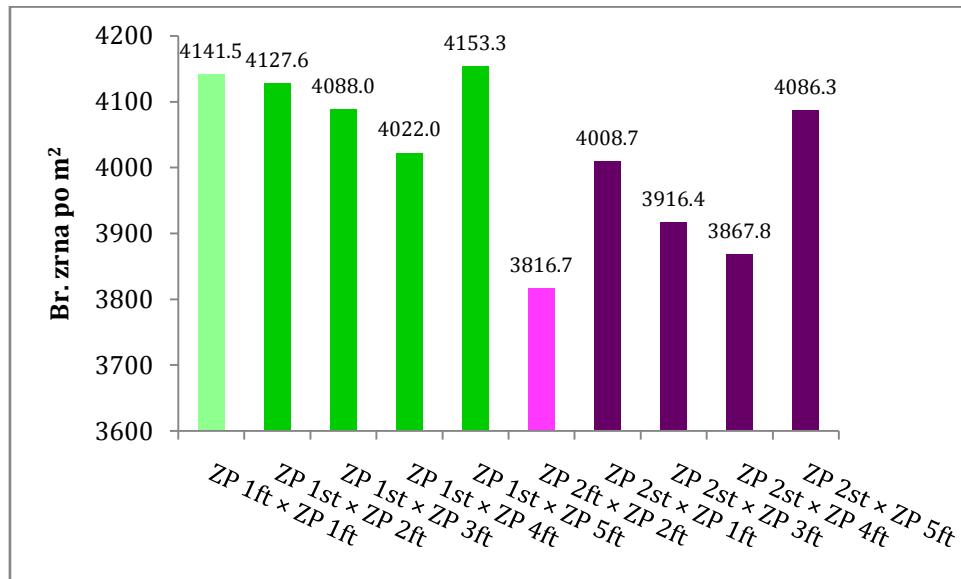
Na graficima su prikazane vrednosti osobina prinos zrna, masa hiljadu zrna i broj zrna po m² u Plus-hibrid smešama u odnosu na ZP 1ft i ZP 2ft per se.



Grafik 1. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft per se i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu prinos zrna (t/ha)



Grafik 2. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft per se i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu masa hiljadu zrna



Grafik 3. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu broj zrna po m²

5.4.2. Plus-hibrid efekat na hemijski sastav zrna

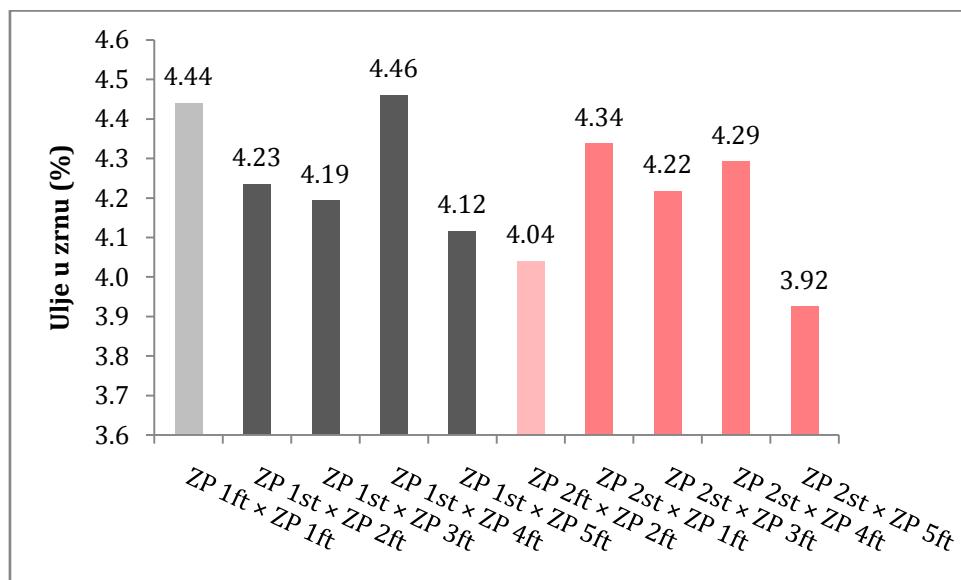
Kombinovani efekat CMS i ksenija na procenat ulja u zrnu je bio negativan kod tri od četiri kombinacije ZP 1 (Tabela 25). Dve Plus-hibrid kombinacije su imale značajno niži udeo ulja: ZP 1st × ZP 3ft za 0,28%, a ZP 1st × ZP 5ft za 0,2%. Nasuprot ZP 1, ZP 2 je pozitivno odreagovao na Plus-hibrid efekat, jer je kod svih kombinacija došlo do povećanja sadržaja ulja u zrnu, a ZP 2st × ZP 1ft i ZP 2st × ZP 4ft su imale značajno višu vrednost ove osobine od fertilnog ZP 2 izogeno opršenog. Plus-hibrid efekat na udeo proteina u zrnu oba hibrida nije bio značajan. Nijedna Plus-hibrid kombinacija ZP 1 nije se značajno razlikovala od svog fertilnog analoga izogeno opršenog za osobinu udeo skroba u zrnu, dok je kod drugog hibrida samo ZP 2st × ZP 1ft pokazala značajnu razliku u odnosu na ZP 2 fertilni izogeno opršen i to smanjenjem od 0,3%.

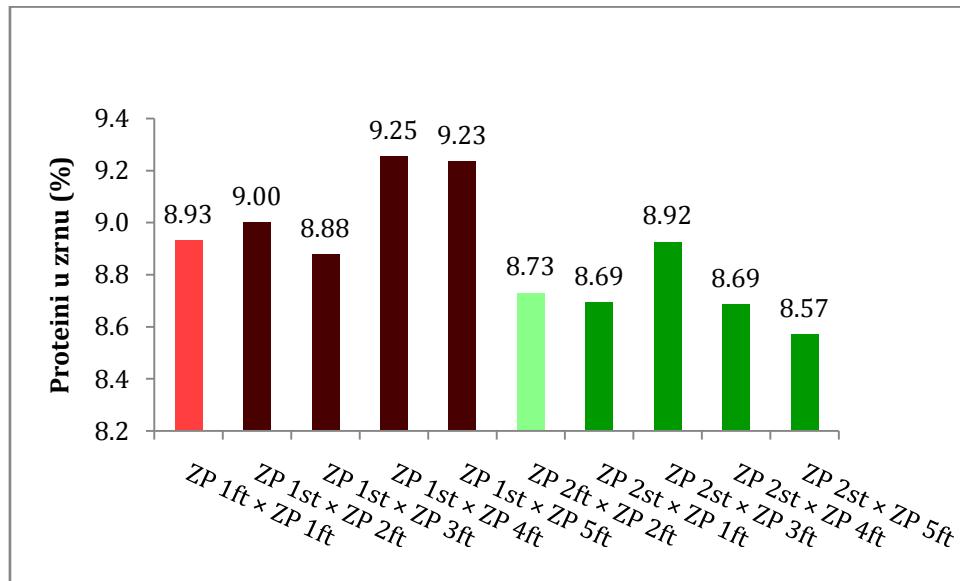
**Tabela 25.** Plus-hibrid efekat na hemijski sastav zrna

Plus-hibrid	Ulje (%)	Proteini(%)	Skrob (%)
ZP 1st × ZP 2ft	-0,15	0,18	0,15
ZP 1st × ZP 3ft	-0,28 **	-0,08	0,34
ZP 1st × ZP 4ft	0,06	0,39	-0,12
ZP 1st × ZP 5ft	-0,20 *	0,37	0,21
ZP 2st × ZP 1ft	0,28 **	-0,11	-0,30 *
ZP 2st × ZP 3ft	0,13	0,18	-0,06
ZP 2st × ZP 4ft	0,25 ***	-0,13	-0,12
ZP 2st × ZP 5ft	0,01	-0,25	0,24

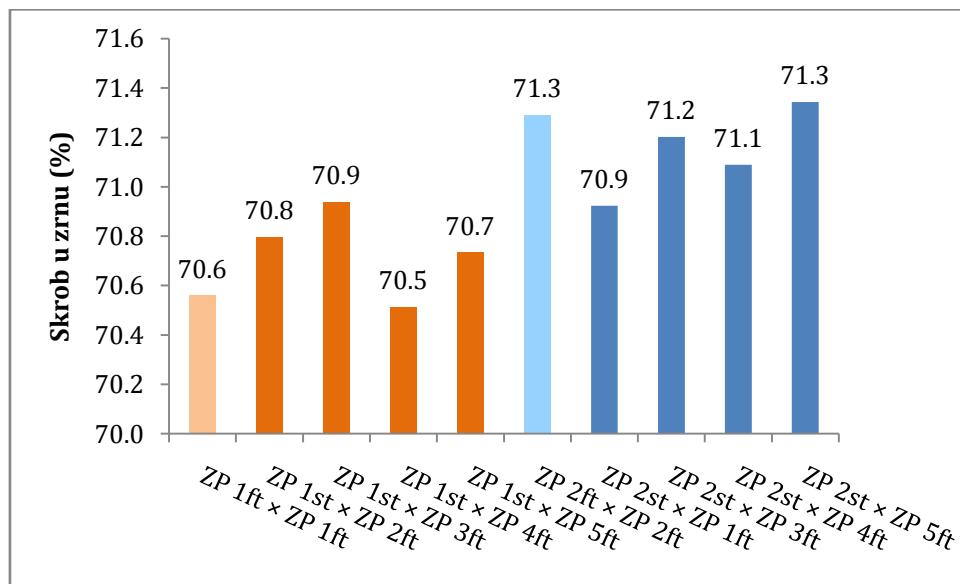
*- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

Na graficima u nastavku teksta su prikazane vrednosti osobina sadržaj ulja, proteina i skroba zrnu u Plus-hibrid smešama u odnosu na ZP 1ft i ZP 2ft per se.

**Grafik 4.** Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu sadržaj ulja u zrnu



Grafik 5. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu sadržaj proteina u zrnu



Grafik 6. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu sadržaj skroba u zrnu



5.4.3. Plus-hibrid efekat na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

Tabela 26. Plus-hibrid efekat na infekciju zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu

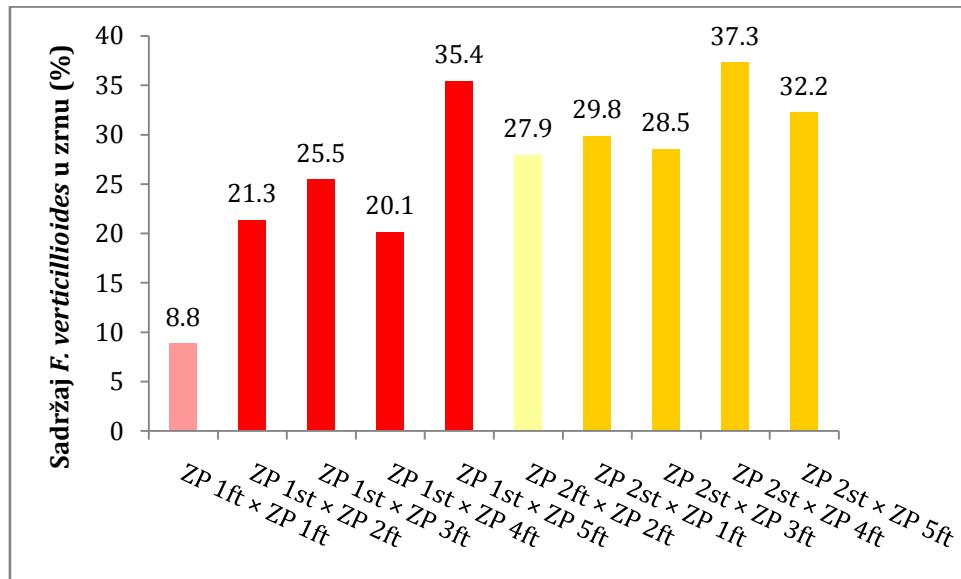
Plus-hibrid	FUZ (%)	FB ₁ (ppm)
ZP 1st × ZP 2ft	8,00 *	0,39
ZP 1st × ZP 3ft	16,50 **	-0,53 *
ZP 1st × ZP 4ft	9,17 *	-0,47 *
ZP 1st × ZP 5ft	29,17 ***	0,91
ZP 2st × ZP 1ft	1,24	1,10 **
ZP 2st × ZP 3ft	1,24	3,13 **
ZP 2st × ZP 4ft	11,49	1,37 **
ZP 2st × ZP 5ft	6,12	4,85 *

FUZ- zaraženost zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu; *- značajno na nivou 0,1; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

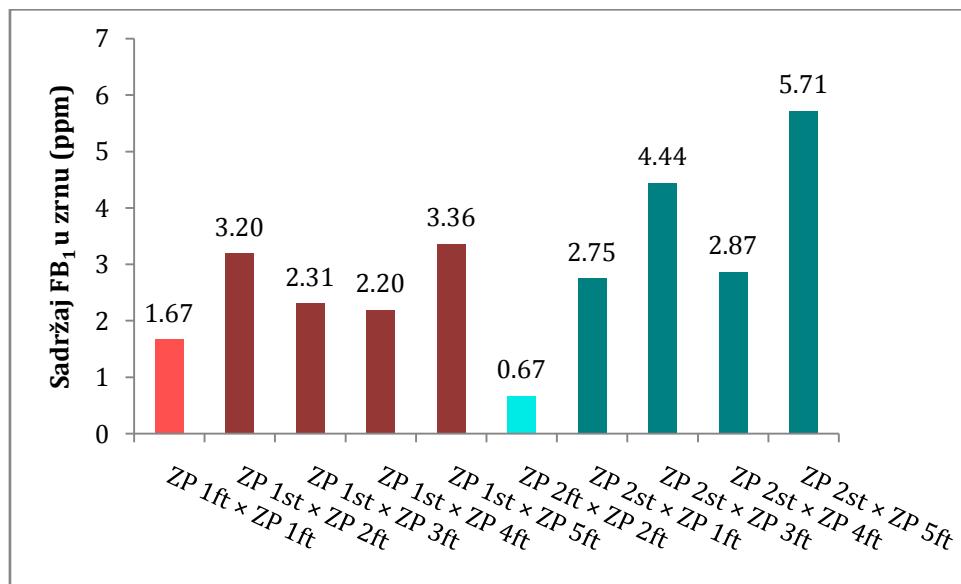
Sve Plus-hibrid kombinacije ZP 1 imale su značajno veći procenat zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* od svog fertilnog analoga izogeno opršenog (Tabela 26). Najveće povećanje je bilo kod ZP 1st × ZP 5ft, u proseku za 29,17%, zatim kod ZP 1st × ZP 3ft za 16,5%. Sve kombinacije drugog hibrida su, takođe, imale povećanu zaraženost zrna ovom vrstom, ali se nijedna nije statistički značajno razlikovala od fertilnog ZP 2 izogeno opršenog.

Plus-hibrid efekat na kontaminaciju zrna mikotoksinom FB₁ hibrida ZP 1 je doveo do značajnog smanjenja njegove koncentracije u zrnu kod dve kombinacije: ZP 1st × ZP 3ft i ZP 1st × ZP 4ft. Međutim, ostale dve Plus-hibrid kombinacije ovog hibrida imale su povećanje kontaminacije zrna ovim mikotoksinom, iako ne značajno. Ispitivani efekat na koncentraciju FB₁ u zrnu je bio negativan za sve kombinacije ZP 2. Naime, kod svih je došlo do značajnog povećanja sadržaja ovog miktoksina u zrnu, a povećanje je iznosilo od 1,1 do 4,85 ppm.

Odnos između infekcije zrna sa *F. verticillioides* i kontaminacije zrna sa FB₁ između hibrida ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i njihovih Plus-hibrid smeša prikazan je na graficima 7 i 8.



Grafik 7. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu sadržaj *F. verticilliooides* u zrnu



Grafik 8. Odnos između ZP 1ft i ZP 2ft *per se* i Plus-hibrid smeša ZP 1ft i ZP 2ft za osobinu sadržaj FB₁ u zrnu



5.5. OPŠTE POLINATORSKE SPOSOBNOSTI OČINSKIH GENOTIPOVA

Tabela 27. OPS, OKS i PKS genotipova za prinos zrna, masu hiljadu zrna i broj zrna po m² korišćenih hibrida i korelacije između OPS očeva i njihovih osobina

per se

Osobina	Hibrid	ZP 1st	ZP 2st	OPS
		PKS		
Prinos zrna	ZP 1ft	0,095	-0,095	0,086
	ZP 2ft	0,183	-0,183	0,323
	ZP 3ft	-0,199	0,199	0,113
	ZP 4ft	-0,074	0,074	0,047
	ZP 5ft	-0,004	0,004	-0,570**
masa 1000 zrna	OKS	-0,155	0,155	r=0,8
	ZP 1ft	2,581	-2,581	-2,939
	ZP 2ft	-3,182	3,182	-1,024
	ZP 3ft	0,885	-0,885	7,234
	ZP 4ft	1,170	-1,170	2,009
	ZP 5ft	-1,455	1,455	-5,280
broj zrna po m ²	OKS	-0,625	0,625	r=0,47
	ZP 1ft	-144,259	144,259	-137,344
	ZP 2ft	-107,186	107,186	-102,582
	ZP 3ft	214,779	-214,779	109,170
	ZP 4ft	-112,757	112,757	-151,225
	ZP 5ft	149,423	-149,423	281,981**
	OKS	-107,535	107,535	r=0,45

r- Pearsonov koeficijent korelacije između OPS hibrida i vrednosti osobine kod hibrida *per se*; **- značajno na nivou 0,05.

Za osobinu prinos zrna, najbolji opšti polinator je hibrid ZP 2ft, dok je najlošiji ZP 5ft, koji jedini ima negativnu vrednost ovog parametra (Tabela 27). Korelacija između OPS hibrida za prinos zrna i ove osobine kod polinadora *per se* je jaka, ali ne i značajna. Jedino ZP 3ft i ZP 4ft imaju pozitivnu OPS za masu hiljadu zrna, s tim što višu vrednost ima ZP 3ft. Srednje jaka korelacija bez značajnosti postoji između OPS i ove osobine kod polinadora. Najviši OPS za broj zrna po m² ima ZP 5ft, a pored njega ZP 3ft jedini ima pozitivan OPS za ovu osobinu. Koeficijent korelacije između OPS i ove osobine kod hibrida je 0,45 i nije značajan.



Nije se izdvojila ni jedna kombinacija sa dobrom PKS za bilo koju od tri ispitivane osobine.

Tabela 28. OPS, OKS i PKS genotipova za udeo ulja, proteina i skroba u zrnu i korelacije između OPS očeva i njihovih osobina *per se*

Osobina	Hibrid	ZP 1st	ZP 2st	OPS
		PKS		
Uљe	ZP 1ft	0,013	-0,013	0,125***
	ZP 2ft	-0,046	0,046	-0,001
	ZP 3ft	-0,072	0,072	-0,104***
	ZP 4ft	0,044	-0,044	0,129***
	ZP 5ft	0,061	-0,061	-0,150***
Proteini	OKS	0,061**	-0,061**	r=0,65
	ZP 1ft	-0,026	0,026	-0,094
	ZP 2ft	-0,068	0,068	0,074
	ZP 3ft	-0,244	0,244	-0,016
	ZP 4ft	0,139	-0,139	0,053
	ZP 5ft	0,198	-0,198	-0,017
Skrob	OKS	0,215***	-0,215***	r=-0,55
	ZP 1ft	-0,013	0,013	-0,214**
	ZP 2ft	0,104	-0,104	-0,042
	ZP 3ft	0,107	-0,107	0,142
	ZP 4ft	-0,090	0,090	-0,115
	ZP 5ft	-0,108	0,108	0,228**
	OKS	-0,272***	0,272***	r=0,07

r- Pearsonov koeficijent korelacije između OPS hibrida i vrednosti osobine kod hibrida *per se*; **- značajno na nivou 0,05; ***- značajno na nivou 0,01.

ZP 1ft i ZP 4ft imaju pozitivnu OPS za udeo ulja u zrnu, dok ZP 3ft i ZP 5ft imaju negativne OPS, na istom nivou značajnosti (Tabela 28). Korelacija između OPS za udeo ulja u zrnu hibrida polinatora i ove osobine kod hibrida *per se* je srednje jaka i iznosi 0,65. Vrednosti OPS za udeo proteina u zrnu hibrida polinatora su niske i samo dva hibrida imaju pozitivnu vrednost. Korelacija OPS i osobina polinatora za udeo proteina u zrnu je negativna i srednje jaka. ZP 1ft ima negativnu OPS, a ZP 5ft pozitivnu značajnu OPS za sadržaj skroba u zrnu, dok je korelacija između OPS i osobina kod hibrida pozitivna, ali jako slaba ($r=0,07$). Ne postoji



kombinacija majke hibrida i polinatora koja se značajno izdvojila po PKS za ove tri osobine.

Tabela 29. OPS, OKS i PKS genotipova za procenat zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju fumonizina B₁ u zrnu i korelacije između OPS očeva i njihovih osobina *per se*

Osobina	Hibrid	ZP 1st	ZP 2st	OPS
		PKS		
<i>F. verticillioides</i>	ZP 1ft	-0,767	0,767	-4,067
	ZP 2ft	-2,283	2,283	-4,217
	ZP 3ft	2,650	-2,650	-0,65
	ZP 4ft	-6,142	6,143	0,808
	ZP 5ft	6,542	-6,542	8,125
	OKS	-4,567	4,567	r=-0,76
FB ₁	ZP 1ft	0,714	-0,714	-1,046
	ZP 2ft	1,319	-1,319	-0,756
	ZP 3ft	-1,075	1,075	0,258
	ZP 4ft	0,326	-0,326	-1,072
	ZP 5ft	-1,285	1,285	2,617
	OKS	-0,921	0,921	r=-0,11

FUZ- procenat zaraženosti zrna sa *F. verticillioides*; FB₁- koncentracija fumonizina B₁ u zrnu; r- Pearsonov koeficijent korelacijske vrednosti između OPS hibrida i vrednosti osobine kod hibrida *per se*.

ZP 5ft ima najveći uticaj na povećanje zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* (Tabela 29), dok ZP 1ft, ZP 2ft i ZP 3ft imaju negativan OPS za ovu osobinu, tj. smanjuju zaraženost zrna ovom vrstom. Pearsonov koeficijent korelacijske vrednosti između OPS i ove osobine kod samih polinatora je -0,76, ali nije značajan. OPS za koncentraciju FB₁ u zrnu je različit kod korišćenih hibrida, ali nijedan ne utiče značajno na ovu osobinu. ZP 5ft ima najvišu vrednost ispitivanog parametra za ovu osobinu. Korelacija između OPS i osobina hibrida *per se* je slaba i negativna. Nijedna kombinacija nema značajnu PKS za ovu osobinu.



5.6. GENETIČKA DISTANCA IZMEĐU GENOTIPOVA

Molekularnom analizom korišćenih genotipova SSR prajmerima dobijeno je ukupno 128 alela što je u proseku iznosilo 6,1 alel po prajmeru (Tabela 4). Broj polimorfnih alela bio je 96 (75%). Najveći broj alela (9) dali su prajmeri umc1013 i umc1695, dok su najmanji, po tri alela, dali prajmeri phi085, umc1492 i umc1841.

Jaccardovi koeficijenti genetičke distance između ispitivanih genotipova su bili u opsegu od 0,27 do 0,60 (Tabela 30). ZP 1ft je genetički najsličniji hibridu ZP 4ft, a najudaljeniji mu je hibrid ZP 5ft. Hibrid ZP 2ft je genetički najbliži hibridu ZP 1ft, a genetički najdalji hibridu ZP 5ft. Po ovom koeficijentu sličnosti ZP 5ft je najviše genetički udaljen od oba korišćena majčinska hibrida.

Tabela 30. Koeficijenti genetičke distance između ispitivanih hibrida po *Jaccard-u*

Hibrid	ZP 1ft	ZP 2ft	ZP 3ft	ZP 4ft	ZP 5ft
ZP 1ft	0				
ZP 2ft	0,42	0			
ZP 3ft	0,45	0,46	0		
ZP 4ft	0,27	0,47	0,42	0	
ZP 5ft	0,53	0,60	0,55	0,49	0

Koeficijenti genetičke distance po *Simple match*-u imali su nešto niže vrednosti nego po *Jaccard*-u, ali nije bilo promene u odnosima između hibrida (Tabela 31). Vrednost ovog koeficijenta se kretala od 0,2 između ZP 1ft i ZP 4ft do 0,46 između ZP 2ft i ZP 5ft. Korelacija između vrednosti genetičkih distanci po *Jaccardu* i *Simple Match*-u bila je značajna i iznosila je 0,96.

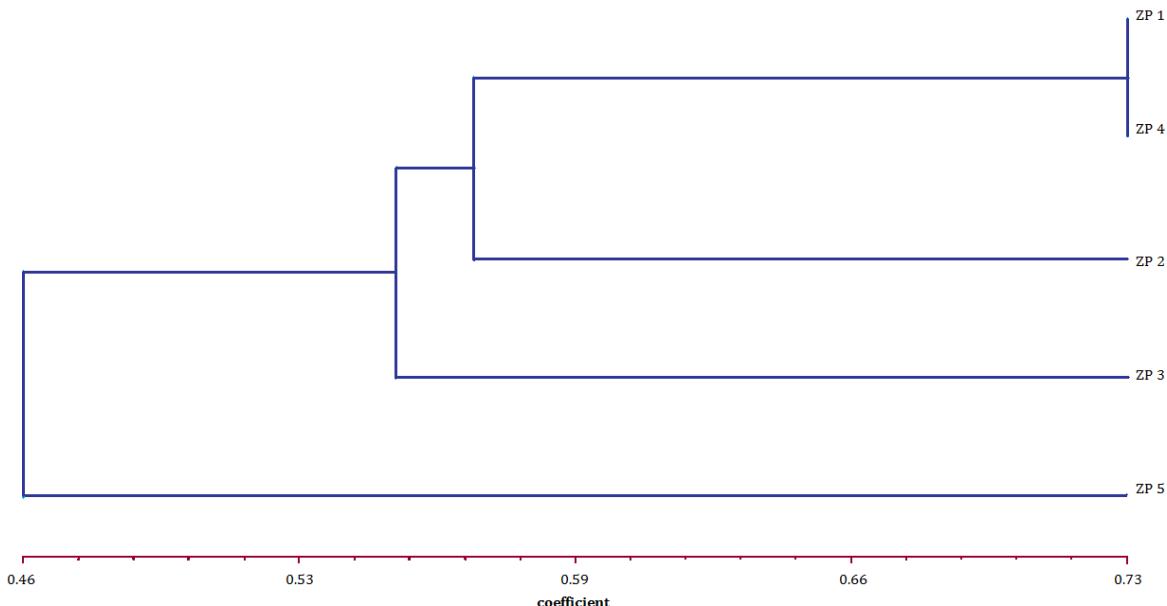
Tabela 31. Koeficijenti genetičke distance između hibrida po *Simple match*

Hibrid	ZP 1ft	ZP 2ft	ZP 3ft	ZP 4ft	ZP 5ft
ZP 1ft	0				
ZP 2ft	0,30	0			
ZP 3ft	0,35	0,32	0		
ZP 4ft	0,20	0,36	0,34	0	
ZP 5ft	0,44	0,46	0,45	0,41	0

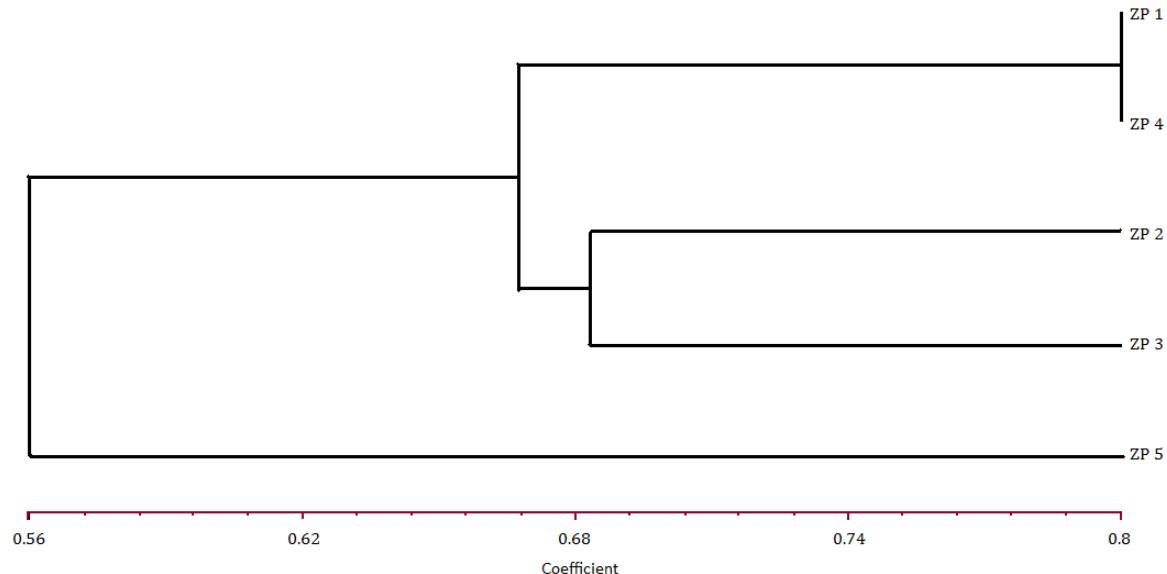


REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Na dendrogramu dobijenom na osnovu matrice genetičke distance po *Jaccard*-u vidi se jasno izdvojen hibrid ZP 5ft labavo vezan za ostale hibride. Tri hibrida (ZP 1ft, ZP 4ft i ZP 2ft) su grupisana u zajednički subklaster, za koji je vezan ZP 3ft.



Slika 1. Dendrogram na osnovu matrice genetičke sličnosti po *Jaccard*-u



Slika 2. Dendrogram na osnovu matrice genetičke sličnosti po *Simple match*-u



Dendogram po *Simple match*-u pokazuje slično grupisanje uzoraka kao ono po *Jaccard*-u (Slika 2). ZP 5ft je i ovde slabo vezan za ostale hibride, s tim što, za razliku od dendrograma po *Jaccard*-u, ZP 2ft i ZP 3ft formiraju zasebni subklaster, koji je vezan za ZP 1ft i ZP 4ft hibride.



6. DISKUSIJA

Prednost genotipova kukuruza kojima se zakidaju metlice u odnosu na njihove normalne verzije za osobinu prinos zrna nije dobijena kod Borgeson (1943) i Kiesselbach (1945), kao ni u novijim ispitivanjima Sangui i Salvador (1998) i Uribelarrea i sar. (2008). Rezultati u našem istraživanju slažu se sa navedenim autorima. Craig (1977) je našao da se pod uticajem zakidanja metlica menja broj zrna, što kod nas nije bio slučaj. Poslednjih godina kod hibrida najnovije generacije primećen je trend u smeru smanjenja veličine metlice i povećanja tolerantnosti na stres (Duvick, 2005), pa je ovo jedno od objašnjenja za dobijene rezultate. Takođe, nedostatak stresa, kao okruženja u kom sterilni genotipovi imaju prednost, kao i eventualno oštećenje prilikom zakidanja metlica, verovatno su uticali na ovakav ishod ispitivanja. Naši rezultati se mogu smatrati validnim iz razloga što je pokazano da ispitivani efekti nisu modifikovani zakidanjem metlica i što znamo da nije došlo do prednosti fertilnog hibrida u odnosu na taj isti hibrid sa zakinutim metlicama ili obrnuto. Samim tim može se govoriti o pouzdanosti eksperimenta i načina na koji su ispitivani efekti računati.

U eksperimentu Weingartner i sar. (2002a) stopa neželjene polinacije belog kontrolnog hibrida hibridima žutog zrna bila je u proseku 5.57% što je neznatno manje nego u našem.

Sudeći po ASI između ispitivanih hibrida zaključuje se da su izabrani genotipovi adekvatni za korišćenje u ovakovom sistemu proizvodnje. Ni između jednog od ispitivanih majčinskih hibrida i polinatora u proseku nije bilo razlike u ASI više od 4 dana, što obezbeđuje adekvatnu polinaciju i pun set zrna na klipu (Bassetti i Westgate, 1994; Westgate i sar., 2003). Većina kombinacija pokazuje protandriju, u našem slučaju metličenje oca pre svilanja majke, i to oko jednog do četiri dana. Kod obe verzije hibrida ZP 1 u kombinaciji sa polinatorima ZP 2ft i posebno ZP 5ft došlo je do protoginije, tj. izlaska svile pre metlice. Carcova i sar. (2000), Kaeser i sar. (2003a) i Anderson i sar. (2004) su utvrdili da se najveći broj zrna, pa i prinos, dobija kad do opršivanja dođe tri do osam dana nakon izlaska prve svile, pa je ovaj odnos zadovoljavajuć. Sa druge strane, u slučaju kad svila „čeka“ polen, može doći i do kontaminacije neželjenim polenom, te posmatrano iz



ovog ugla, rezultate ovih Plus-hibrid kombinacija treba uzeti sa oprezom. Iako je vidljivo odstupanje u ASI između sterilne i fertilne varijante istog hibrida, ne postoji značajna razlika između njih, pa se može tvrditi da CMS ne utiče na promenu vrednosti ove osobine. Iste rezultate dobili su i Kaeser i sar. (2003a). Bez obzira na to što ne postoji značajan uticaj CMS na ASI, primećuje se da između sterilne i fertilne varijante ZP 1 dolazi do nešto većeg odstupanja u ASI nego kod sterilne i fertilne varijante ZP 2 te da možda majčinski genotip blago modifikuje efekat CMS na ovu osobinu. Međutim, interakcija CMS i majčinskog genotipa nije bila značajna, kako u našem, tako i istraživanju Kaeser i sar. (2003a).

Može se reći da CMS ima jači efekat na ZP 2 hibrid u odnosu na ZP 1 i da ova dva genotipa drugačije reaguju na CMS. Ako posmatramo efekat sterilnosti na visinu klipa evidentno je da je ZP 2 mnogo osjetljiviji na ovaj efekat od ZP 1. Iako je samo kod ZP 2 CMS značajno uticala na visinu klipa (došlo je do smanjenja) može se zaključiti da dobijeni rezultati nisu u saglasnosti sa onima koje su dobili Grogan i sar. (1971). Naime, oni su utvrdili da se pod efektom sterilnosti najmanje menjaju visina klipa i vлага u zrnu, a ovde smo dobili efekat sterilne citoplazme na visinu klipa na nivou $p<0.001$. Ove razlike se mogu objasniti time što su pomenuti autori ispitivali inbred linije i to u T tipu sterilnosti. ANOVA je pokazala jaku interakciju između majčinskog genotipa i sterilne citoplazme, što objašnjava različitu reakciju hibrida na uticaj CMS na visinu klipa. Uticaj CMS na smanjenje visine klipa je pozitivan ishod, jer je nizak klipa poželjna osobina kod savremenih hibrida (Duvick, 2005). Sa druge strane, iako je ANOVA pokazala jak uticaj CMS na vlagu zrna u momentu berbe, pojedinačnim poređenjem nije dobijena značajnost. Bez obzira na ovakve rezultate, smanjenje nije bilo zanemarljivo, posebno kod prvog ispitivanog hibrida. Weingartner i sar. (2002a) su dobili slične rezultate, dok su Grogan i sar. (1971) dobili suprotne. Manji ideo vlage u zrnu smanjuje troškove sušenja i poželjna je karakteristika, pa se može reći da je efekat CMS na ovu osobinu pozitivan.

CMS nije uticala na prinos zrna intenzivno kako se očekivalo. Naime, samo kod jednog hibrida je došlo do povećanja prinosa u proseku od nešto više od pola tone i to ne značajno, pa se zaključuje da je ovaj efekat na ispitivanu osobinu naših hibrida zanemarljiv. Dobijeni rezultati nisu u skladu sa onim koje su dobili Rogers i



Edwardson (1952), Chinwuba i sar. (1961), Bruce i sar. (1966), Duvick (1965), Sanford i sar. (1965) i Pinter (1986). U skorijim ispitivanjima modernih hibrida, Stamp i sar. (2000) su dobili značajno povećanje prinosa zrna kod hibrida sa T tipom sterilnosti u odnosu na njihove fertilne varijante. Evidentno je da hibridi bolje reaguju na T tip sterilnosti nego na S u kom su bili naši genotipovi. Ovo se slaže sa ispitivanjima koje je vršio Kaeser (2003b) koji je dobio da hibridi u CMS-T tipu, kao i u CMS-C tipu sterilnosti imaju viši prinos od onih u S tipu CMS. Kaul (1988) je razlog za ovo našao u specifičnosti S tipa, koji proizvodnju polena prekida nešto kasnije nego prva dva tipa. Iz istih razloga naši rezultati uglavnom se ne slažu sa onima koje su dobili Weingartner i sar. (2002a). Munsch (2008) je utvrdila i pozitivan i negativan efekat CMS na prinos zrna što je donekle u skladu sa našim rezultatima. Isti autor je naglasio da kod hibrida u S tipu sterilnosti najmanje dolazi do promene u prinosu. Naši rezultati su u skladu sa onim koji je dobio Weider (2008), jer ni u njegovom eksperimentu nije došlo do značajnog povećanja prinosa sterilnog u odnosu na fertilni hibrid, kao ni u istraživanju Uribelarrea i sar. (2008), u kojem nije utvrđen efekat na ovu osobinu.

Ako posmatramo efekat CMS-a po godinama i hibridima (s obzirom da je jaka interakcija majke, godine i sterilnosti) dobija se povećanje prinosa sterilnog ZP 1 u odnosu na fertilnog analoga za više od tone po hektaru (8,53%) u 2009. (podaci nisu prikazani). Takođe, u 2010. godini ZP 2st je imao 1,8 t/ha (15,9%) više nego ZP 2ft. Ovi podaci se slažu sa zaključcima Duvick (1957), Duvick (1958), Duvick (1965), Rogers i Edwardson (1952), Everett (1960), Lim i sar. (1974) o uticaju genotipa i faktora spoljašnje sredine na efekat CMS.

Jedno od objašnjenja slabog pozitivnog reagovanja hibrida na sterilnost bi mogla biti u tome što se efekat računao u odnosu na fertilne hibride izogeno opršene kojima su zakidane metlice. Iako je pokazano da nije bilo statističke razlike između fertilnih ZP 1 i ZP 2 sa zakinutim metlicama izogeno opršenih i običnih ZP 1ft i ZP 2ft, moguće je da je ovakva postavka eksperimenta na neki način, ipak, ublažila uticaj sterilnosti, koji se u ovom slučaju sveo samo na efekat sterilne citoplazme i razlike u mitohondrijalnoj DNK između sterilnih hibrida ZP 1st i ZP 2st i njihovih fertilnih analoga izogeno opršenih. Činjenica da postoji razlika u efektu sterilnosti na prinos između različitih tipova CMS govori nam o



tome da se uticaj sterilnosti ne svodi samo na dobit od neproizvodnje polena, već i na uticaj citoplazme i gena u njoj. U skladu s ovim možda bi trebalo ispitati i efekat različitih podtipova sterilnosti u okviru glavnih tipova, jer je moguće da bi i njihov efekat bio različit. Verovatno je da bi CMS efekat bio jači da su sterilni hibridi poređeni sa običnim fertilnim ZP 1, tj. ZP 2, kojima nisu zakidane metlice. U vezi sa ovim, u našem istraživanju efekti sterilnog polena i sterilne citoplazme su razdvojeni za razliku od onih kod Stamp i sar. (2000), Kaeser (2002), Weingartner i sar. (2002a), Weider (2008), Uribelarrea i sar. (2008). S druge strane, Munsch (2008) je razdvojila ova dva efekata, ispitujući efekat CMS-a na isti način kao i mi i, kao što je već navedeno, dobila slične rezultate.

Weingartner i sar. (2002a) i Kaeser (2002) ističu da do pozitivnog efekta CMS hibrida u odnosu na fertilne dolazi i usled čistijih gornjih listova, koji nisu prekriveni polenom. Već je pomenuto da noviji hibridi imaju sitnije metlice koje osim što proizvode manju količinu polena, manje i zaklanjaju gornje listove, pa tako ovi nesmetano mogu da obavljaju svoju fotosintetsku aktivnost. Iz ovog ugla, efekat sterilnosti se, možda, danas, svodi samo na efekat sterilne citoplazme, a ne i sterilnog polena. S druge strane, ponekad je teško ispratiti i otkinuti sve metlice pre nego što počnu da praše, pa je verovatno da se deo hranljivih materija ipak potroši na produkciju polena, što je verovatno imalo dodatni uticaj na efekat sterilne citoplazme. Prethodno pomenuto sigurno više dolazi do izražaja kod T i C tipa citoplazmatične sterilnosti, koji, kao što je napomenuto, ranije prekidaju proizvodnju polena od S tipa, u kom su bili naši sterilni hibridi.

Dužina klipa i broj redova zrna su osobine preko kojih CMS nije uticala na prinos zrna u našem eksperimentu. Ove osobine su najviše determinisane genotipom majke, što je pokazala i ANOVA. Ako posmatramo broj zrna u redu hibrida ZP 2, zaključuje se da je verovatno jednim delom preko ove osobine došlo do povećanja prinosa zrna. Opet, vidno je da je efekat CMS na ovu osobinu ZP 2 bio intenzivniji i pozitivniji nego kod ZP 1, iako ANOVA nije pokazala značajnu interakciju CMS-a i genotipa. Takođe, iako ANOVA nije pokazala značajnost, hibrid polinator modifikuje efekat CMS na ovu osobinu. Promene u vrednosti dubine zrna pod efektom CMS su takođe bile vrlo male kako bi se tvrdilo da ova komponenta doprinosi promeni u prinosu zrna. Ako posmatramo ZP 2 hibrid, može se tvrditi da



je do povećanja u prinosu zrna ZP 2st došlo preko povećanja mase hiljadu zrna i broja zrna po jedinici površine. Andrade i sar. (1996), Weingartner i sar. (2002a), Kaeser (2003b) i Weider (2008) su utvrdili da je povećanje broja zrna odgovorno za viši prinos sterilnih hibrida, dok masa hiljadu zrna nije imala bitan efekat, ili je čak bila u negativnoj korelacijsi sa prinosom, ali ne značajno. Munsch (2008) je dobila slične rezultate, s tim što je kod hibrida u T tipu došlo do značajnog smanjenja mase zrna u odnosu na fertilni hibrid. Ona je, takođe, utvrdila da kod S tipa sterilnosti dolazi do zanemarljive promene u masi hiljadu zrna i broju zrna. Doprinos mase hiljadu zrna i broja zrna po m^2 umnogome zavisi od godine ispitivanja, a kod druge osobine i od interakcije godine i sterilne citoplazme, kao i majčinskog genotipa i sterilne citoplazme. S obzirom da je kod ZP 1st oprašenog sa ZP 5ft došlo do smanjenja vrednosti u odnosu na ZP 1ft oprašenog istim polinatorom, zaključujemo da genotip oca modifikuje efekat CMS na ovu osobinu.

Spoljašnji uslovi, majčinski genotip, kao i interakcija ova dva faktora imaju najveći uticaj na hemijski sastav zrna. Iako nismo očekivali da dođe do promene udela ulja u zrnu, kod ZP 2st je došlo do povećanja sadržaja ove materije. Najveći deo ulja u zrnu nalazi se u embrionu (85%) i povećanjem njegove veličine postiže se i povećanje sadržaja ove materije u zrnu. Na koji način CMS može da utiče na sadržaj ulja u zrnu do sada nije objašnjeno. S obzirom da ANOVA nije pokazala uticaj sterilne citoplazme na ovu komponentu kvaliteta zrna, dobijene rezultate treba uzeti sa rezervom. CMS blago značajno utiče na udeo proteina u zrnu, koji je, takođe, pod jakim uticajem godine. Weider (2008) je dobio značajno povećanje sadržaja azota u zrnu, koji je u direktnoj vezi sa sadržajem proteina. Weingartner i sar. (2004) su pokazali da u zrnu sterilnih hibrida dolazi do smanjenja sadržaja azota, pa samim tim i proteina, što nije saglasno sa našim rezultatima. Ukupan prinos proteina je u većoj korelacijsi sa prinosom zrna nego sa sadržajem proteina u zrnu, pa ovi autori smatraju da povećanje prinosa zrna u većoj meri utiče na prinos proteina, nego nastojanje da se poveća sadržaj proteina u zrnu. Viši sadržaj proteina u zrnu, iako blag, verovatno je posledica preusmeravanja mineralnog azota sa proizvodnje polena na sadržaj proteina u zrnu. Interakcija između sterilnosti i polinadora je uticala da ZP 1st oprašen sa ZP 4ft ima više proteina u zrnu od ZP 1ft × ZP 4ft. Generalno, majčinski, kao i očinski genotip modifikuju



efekat CMS na ovu osobinu ispitivanih hibrida. CMS efekat na sadržaj skroba u zrnu nije značajan, međutim, pod uticajem spoljašnje sredine i majčinskog genotipa zajedno efekat sterilnosti na ovu osobinu se menja. Neznačajno smanjenje sadržaja skroba u zrnu sterilnih u odnosu na fertine hibride može se objasniti time što je došlo do neznatnog uvećanja sadržaja proteina u zrnu koji je u jakoj negativnoj korelacijsi sa sadržajem skroba. Na kraju, može se tvrditi da CMS ne kvari kvalitet zrna, ali da se njen efekat na neke komponente menja u zavisnosti od godine, i u ovakvom sistemu proizvodnje može zavisiti od hibrida polinatora.

CMS utiče na povećanje osjetljivosti kukuruza na *Fusarium verticillioides*. Kod oba sterilna hibrida je došlo do povećanja stepena zaraženosti u odnosu na fertilnog analoga, a kod ZP 2 značajno. Međutim, s obzirom na veliki koeficijent varijacije u ANOVA za ovu osobinu, podatke treba uzeti sa rezervom. Značajan je uticaj spoljašnjih faktora, pa ako se posmatraju sirovi podaci po godinama (nisu prikazani) uočava se da je prosečna zaraženost zrna ovom vrstom kod oba hibrida u 2009. znatno viša nego u preostale dve godine. Takođe, postoje i velike razlike u okviru tri ponavljanja, naime, kod nekih uzoraka zaraženost je bila velika u jednom ponavljanju, dok u drugom skoro da nije postojala. Ovo je i razlog za neusaglašenost između jačine CMS efekta i nivoa značajnosti. Na zaraženost zrna utiču mnogi biotički i abiotički faktori, što je, takođe, jedno od objašnjenja za ovoliko variranje. Utvrđen je i značajan uticaj majčinskog genotipa na kontaminaciju zrna, što se slaže sa podacima koje su dobili Headrick i Pataky (1991). Hibrid polinator ima uticaja na efekat CMS-a za ovu osobinu, jer ZP 2st opašen sa ZP 1ft, ZP 3ft i ZP 5ft ima uočljivo manju infekciju zrna nego ZP 2ft opašen istim polinatorima, redom, kao i ZP 1st × ZP 3ft u odnosu na ZP 1ft × ZP 3ft. U literaturi ne postoje podaci o tome da li neki tip CMS-a utiče na zaraženost zrna sa *F. verticillioides*.

Veliki je uticaj godine na produkciju fumonizina B₁ u zrnu kukuruza, i kao kod prethodne osobine, koncentracija FB₁ u zrnu 2009. godine je bila znatno viša nego u 2010. i 2011. Koeficijent varijacije za ovu osobinu bio je još viši nego za zaraženost sa *F. verticillioides*, iz istih razloga, pa i ove rezultate treba tumačiti sa oprezom. Majčinski genotip utiče na stepen produkcije ovog mikotoksina, jer kod ZP 1st i njegovih kombinacija sa polinatorima dolazi do smanjenja, a kod ZP 2st



uglavnom do povećanja njegove produkције. Do razlike u efektu sterilnosti na hibride *per se* i hibride oprašene nekim od očeva došlo je zbog interakcije između sterilne citoplazme i hibrida polinatora, iako ANOVA nije pokazala značajnost. Međutim, u onim genotipovima gde dolazi do povećanja zaraženosti sa *F. verticillioides* nije obavezno dolazilo i do povećanja koncentracije FB1, tj. korelacija praktično nije postojala. Ovo nije u skladu sa Robertson i sar. (2006), koji su utvrdili jaku korelaciju između ove dve pojave. Ovakav rezultat upućuje da promene u koncentraciji FB₁ u zrnu ne potiču samo od promene u stepenu zaraženosti sa *F. verticillioides*. Uzrok ovome mogu biti druge vrste koje su detektovane u našim genotipovima, međutim, *F. verticillioides* je jedina koja se pojavljuje u svim genotipovima, pa je zato nastavljeno ispitivanje zaraženosti semena samo njom. Do smanjenja kontaminacije zrna mikotoksinom moglo je doći usled posrednog efekta CMS i to preko smanjenja vlage zrna u momentu berbe. Slaba negativna korelacija koncentracije FB₁ sa vlagom zrna u momentu berbe koju smo dobili i u ovom istraživanju potvrđuje prethodnu tvrdnju. Međutim, ovo je slučaj samo kod prvog hibrida. Zaraženost zrna sa *F. verticillioides*, kao i koncentracija mikotksina koje ona proizvodi su vrlo kompleksne osobine, na koje mogu uticati brojni faktori, koje jednostavno nije bilo moguće celokupno obuhvatiti. Takođe, za neka dalja ispitivanja, bilo bi pouzdano posmatrati podatke posebno po godinama, zbog velikog uticaja spoljašnje sredine na infekciju zrna gljivičnim bolestima i produkciju mikotksina.

Ksenija, iako ne statistički značajno, ima efekat na sadržaj vlage u zrnu u momentu berbe. Ovo se može objasniti time što ksenije utiču na nekoliko glavnih fizioloških osobina koje se tiču nalivanja zrna kod kukuruza. Naime, Seka i Cross (1995) su utvrdili da hibridi oprašeni stranim oprašivačem brže gomilaju suvu materiju u zrnu, što znači da i brže gube vlagu. Međutim, Tsai i Tsai (1990) su zaključili da ksenije produžavaju period nalivanja zrna, što se povezuje sa povećanjem prinosa, ali ne i smanjenjem sadržaja vlage u zrnu.

U ovom istraživanju hibrid polinator slabo značajno utiče na prinos naših hibrida, međutim, u tri od osam Plus-hibrid kombinacija došlo je do smanjenja prinosa, a značajno pod uticajem ZP 5ft. Hoekstra i sar. (1985), Tsai i Tsai (1990), Weiland (1992) utvrdili su jak signifikantan efekat ksenije na prinos zrna.



Variranje u efektu ksenija na prinos zrna dobila je i Munsch (2008), dok su Liu i sar. (2010), takođe, utvrdili pozitivan efekat ksenija na jedan, a negativan na drugi hibrid. Godina ispitivanja, kao i sterilna citoplazma nisu značajno modifikovali efekat ksenije na ovu osobinu, a isto su dobili i Weingartner i sar. (2002a). Efekat ksenija na dubinu zrna bio je kod drugog hibrida značajno pozitivan, iako je povećanje bilo malo. Promena oblika i veličine zrna prilikom stranog oprašivanja je potvrđena u radu Denney (1992) i isto tako može biti jedan od faktora koji utiču na težinu zrna. Značajan efekat ksenija na masu hiljadu zrna drugog hibrida dobijen je pod uticajem dva polinatora. Ovi rezultati slažu se sa onima koje su dobili Hoekstra i sar. (1985), Seka i Cross (1995), Bulant i Gallais (1998), Weingartner i sar. (2002a, b) i Weider (2008), koji su utvrdili da do povećanja prinosa dolazi preko povećanja težine zrna. Evidentno je da hibrid ZP 5ft utiče na povećanje broja zrna po jedinici površine kod oba hibrida, iako je kod prvog došlo do smanjenja prinosa zrna baš pod uticajem ovog polinatora. Weingartner i sar. (2002a) su dobili isti rezultat, dok Liu i sar. (2010) nisu utvrdili povećanje broja zrna po klipu pod uticajem ksenije. Kao i kod Weingartner i sar. (2002a) efekat ksenija je pod jakim uticajem godine ispitivanja, dok majčinski genotip nije uticao na ovaj efekat. Postoji nekoliko objašnjenja relativno slabog efekta ksenija na prinos i komponente prinosa kukuruza u odnosu na prethodna istraživanja. Prvi razlog bi mogao biti nedostatak kontrole polinacije, pa iako je prema našim rezultatima došlo do oko 6% neželjenog oprašivanja, ovo je moglo biti dovoljno da smanji razliku u efektu ksenija na ispitivane genotipove. Drugi razlog može biti u načinu računanja efekta ksenije. Naime, Weingartner i sar. (2002 a, b) i Munsch (2008) su ovaj efekat računali kao razliku između sterilnog hibrida neizogeno oprašenog i sterilnog hibrida izogeno oprašenog, što znači da nisu razdvojili efekat ksenije od efekta sterilnosti. Način na koji smo mi merili uticaj stranog oprašivača može se smatrati pouzdanijim od onog koji su koristili navedeni autori, jer sterilnost može modifikovati efekat ksenija ne neke osobine, što je prikazano i u poglavljju rezultata vezanom za razliku između efekta ksenija na fertilnu i sterilnu verziju istog hibrida. Seka i Cross (1995) su našli da do povećanja težine zrna pre dolazi ako polinator ima krupnije nego sitnije zrno, pa je, takođe, moguće da je razlika u krupnoći zrna između majki i očeva u našem eksperimentu bila neznačajna ili su čak majke imale



krupnije zrno od očeva. Uticaj ksenija na broj zrna do sada nije objašnjen, ali možda se deo pozitivnog uticaja može objasniti sinhronizacijom metličenja oca i svilanje majke. Ako se posmatraju rezultati uticaja ksenije na broj zrna po m², primećuje se da je značajno povećanje kod oba hibrida došlo kod opršivanja sa ZP 5ft. U poređenju sa hibridima majkama, ZP 5ft je metličio dva dana nakon svilanja ZP 1 i jedan dan pre svilanja ZP 2, i kod oba hibrida je bio polinator koji je najkasnije cvetao. U skladu sa tvrdnjom nekih autora da se najveći set zrna formira kad do polinacije dođe tri do osam dana nakon izlaska prve svile, možda je ovo odgovor na povećanje broja zrna koje smo dobili.

Različit uticaj polinatora na udeo ulja u zrnu može se tumačiti značajnom polinator × majka interakcijom, kao i promenom ovog uticaja u različitim godinama. Ksenija je uglavnom uticala na povećanje sadržaja ulja u zrnu na drugi ispitivani hibrid, što se slaže sa saznanjima Letchworth i Lambert (1998), Lambert i sar. (1998) i Thomison i sar. (2002). Moguće je da je dodatni razlog neznačajnog i slabo negativnog efekta ksenija na udeo ulja u zrnu u višem sadržaju ulja u zrnu hibrida ZP 1. Naime, Letchworth i Lambert (1998) su utvrdili da kod hibrida sa visokim sadržajem ulja u zrnu ne dolazi do promene ove komponente pod uticajem drugog polinatora. U našem istraživanju ZP 1 *per se* je imao 4,41%, a ZP 2 4,05% ulja u zrnu, pa je verovatno stoga došlo do razlike u efektu ksenija. Neznačajan efekat ksenija na proteine slaže se sa konstatacijom Letchworth i Lambert (1998) koji su dobili jak materinski efekat za sadržaj skroba i proteina. U tri od četiri Plus-hibrid kombinacije oba hibrida došlo je do blagog smanjenja sadržaja ove materije u zrnu, što se uglavnom slaže sa Weingartner i sar. (2004) kod kojih je kod jednog od dva hibrida došlo do smanjenja sadržaja proteina u zrnu pod uticajem stranog opršivača. Naši rezultati ne slažu se sa onim koje su dobili Tsai i Tsai (1990). Međutim, efekat polinatora na ovu osobinu modifikuju godina ispitivanja, kao i majčinski genotip. Ksenija je na udeo skroba u zrnu uticala značajno samo na drugi ispitivani hibrid i to negativno, što nije u skladu sa rezultatima Bulant i sar. (2000) i Perenzin i sar. (1980). Verovatno je do smanjenja sadržaja skroba u zrnu došlo zbog povećanja udela ulja s kojim je skrob u negativnoj korelaciji. Zaista, ako se posmatra tabela sa podacima o uticaju ksenija na hemijski sastav zrna uočava se da



je tamo gde je pod uticajem polinatora došlo do povećanja sadržaja ulja u zrnu došlo do smanjenja sadržaja skroba i obrnuto.

Ksenije značajno utiču na infekciju zrna sa *F. verticillioides* kod oba hibrida. Iako ANOVA nije pokazala značajan uticaj polinatora na zaraženost zrna, došlo je do prosečnog povećanja infekcije zrna sa *F. verticillioides* za 16,54%, što nikako nije zanemarljivo. Svaki od polinatora je manje ili više uticao na povećanje infekcije, pa se ne može govoriti o tome da samo neki genotipovi polinatora utiču negativno, već je ovo posledica stranog oprasivanja kao takvog. Bush i sar. (2004) su utvrdili da se koncentracija *F. verticillioides* tokom sazrevanja zrna povećava, pa je možda neposredan efekat ksenije na produženje perioda nalivanja zrna, a samim tim i sazrevanja, posredno uticalo na ovakav rezultat. Iako je kod oba hibrida pod uticajem ksenija došlo do povećanja koncentracije FB₁ u zrnu, primećuje se da je do značajnog povećanja došlo samo kod ZP 2ft, što nam govori o uticaju majčinskog genotipa na efekat ksenija za ovu osobinu. Što je viši sadržaj ulja u zrnu, veća je i kontaminacija fumonizinima (Dall'Asta i sar., 2012), pa uzevši u obzir da su neke od ksenija podigle nivo ulja u zrnu, moguće je da je ovo povećanje uticalo na koncentraciju FB₁ u zrnu naših genotipova. Koeficijent varijacije ANOVA za ove dve osobine je veliki i podatke treba uzeti sa oprezom, a možda treba obraditi zasebno svaku godinu, kako bi se smanjila varijacija. Dobijeni podaci ne slažu se sa onim koje su dobili Gardner i sar. (2006), koji nisu utvrdili uticaj ksenija na zaraženost zrna kukuruza vrstom *Aspergillus flavus*.

Ispitivanje razlike uticaja ksenija na fertilnu i sterilnu verziju majčinskih hibrida je utvrdilo da pod uticajem sterilnosti dolazi do modifikacije uticaja stranog oprasivača na veći broj prikazanih osobina. Uopšteno posmatrajući, čini se da CMS ublažava efekat ksenija na prinos i komponente prinosa zrna, što može biti posledica interakcije ova dva efekta, kao i godine ispitivanja i majčinskog genotipa sa sterilnom citoplazmom. Sterilni genotipovi su stabilniji u različitim spoljašnjim sredinama i možda manje reaguju na efekte stranog polinatora. Međutim, modifikacija ksenija na hemijski sastav zrna je najprimetnija. Već je objašnjeno da ksenija ima slabiji efekat na povećanje ulja što je veća koncentracija ove materije u zrnu (Letchworth i Lambert, 1998), pa je na ovaj način, posredno, CMS mogla uticati na drugačiji efekat ksenija na sterilne genotipove. Uočava se i da kod CMS



genotipova ne dolazi do tako intenzivnog povećanja zaraze zrna sa *F. verticillioides* kao kod fertilnih, štaviše, kod nekih dolazi i do smanjenja kontaminacije zrna ovom vrstom. Isti rezultati su dobijeni ispitivanjem produkcije fumonizina u zrnu. S obzirom da bi se u praksi i koristili sterilni hibridi kao majke ovo je pozitivan rezultat, jer sterilnost evidentno utiče na smanjenje infekcije zrna. Bez obzira što ANOVA nije pokazala značajnu interakciju sterilnosti i polinatora za ove ispitivane osobine, treba uzeti u obzir promene u efektu koje dolaze usled toga i na neki način pokušati predvideti dobitak ili gubitak u eventualnoj proizvodnji.

Kombinovani efekat sterilnosti i ksenija je uticao na brže gubljenje vlage u zrnu ispitivanih majki u našem istraživanju. Ovakav efekat je pozitivan, jer, kako je već pomenuto, u eventualnoj komercijalnoj proizvodnji troškovi sušenja bili bi niži. Plus- hibrid efekat na prinos zrna nije ispunio očekivanja. Dok je u istraživanju Weingartner i sar. (2002a) došlo do Plus-hibrid efekta na povećanje prinosa zrna u proseku od 9%, kod nas je očekivani pozitivni uticaj izostao. Munsch (2008) je, takođe, dobila povećanje prinosa zrna do 20% najboljih Plus-hibrid kombinacija. Weider (2008) je, u zavisnosti od polinatora, dobio efekat od -5,4% do 29% na prinos zrna. Posmatrajući Grafik 1 sa prinosima naših hibrida u potencijalnim Plus-hibrid smešama, uočava se da bi hipotetički samo kod jedne Plus-hibrid smeše ZP 1 došlo do povećanja prinosa zrna i to neznatno, dok bi kod tri smeše ZP 2 došlo do povećanja u prinosu. Weingartner i sar. (2002b) su, ispitujući Plus-hibrid smeše u strip ogledima dobili slabiji efekat CMS i ksenija uz obrazloženje da su korišćeni hibridi u S tipu, čime se može objasniti i slaba reakcija naših genotipova. ZP 2 hibrid je imao jače i generalno pozitivnije ispitivane efekte na prinos zrna nego ZP 1. Isto je i sa masom hiljadu zrna i brojem zrna po m², gde je kod svih Plus-hibrid kombinacija ZP 2 došlo do povećanja vrednosti. Povećanje težine, kao i broja zrna u nekim Plus-hibrid kombinacijama dobili su i Weingartner i sar. (2002a), Munsch (2008) i Weider (2008). Treba napomenuti da se Plus-hibrid efekat već ispoljava u proizvodnji hibridnog semena kukuruza na bazi CMS. Naime, inbred linije majke u ovakovom sistemu proizvodnje su sterilne (efekat CMS), dok je otac neka druga fertilna inbred linija (efekat ksenije) i bilo bi vrlo zanimljivo ispitati prednosti nekih ukrštanja u odnosu na druge. Ova prednost se najviše može ogledati u dobijanju većeg broja F1 zrna na majci po jedinici površine. Hibridno seme se



prodaje u dozama, tj. setvenim jedinicama, a jedna setvena jedinica hibrida kukuruza sadrži određen broj F1 zrna (25000-75000). Ako bi neka ukrštanja pod uticajem CMS i ksenija davala veći broj zrna od drugih, samim tim na istoj površini bi se proizvelo više setvenih jedinica i semenska proizvodnja bi bila efikasnija. Ovo nije vezano za Plus-hibrid sistem proizvodnje komercijalnog kukuruza, ali bi bilo vrlo korisno ispitati ovaj efekat u semenskoj proizvodnji.

Slični rezultati o pozitivnijem odgovoru ZP 2 na Plus-hibrid efekat su dobijeni i za hemijski sastav zrna. Naime, kod tri od četiri kombinacije prvog hibrida došlo je do smanjenja sadržaja ulja, dok je kod svih kombinacija ZP 2 došlo do povećanja ove materije. Sadržaj proteina u Plus-hibrid kombinacijama je slabo izmenjen u odnosu na fertilne analoge izogeno oprашene, što se slaže sa zaključcima Weingartner i sar. (2004). Sadržaj skroba u zrnu se menjao posredno, preko promene u udelu ulja u zrnu, kao što je već napomenuto u prethodnom tekstu. Zaključak je da Plus-hibrid efekat, u zavisnosti od majčinskog hibrida i njegovog odgovora na CMS i ksenije, može uticati i na poboljšanje kvaliteta zrna, najviše preko povećanja udela ulja u zrnu.

Rezultati efekta CMS i ksenija na infekciju zrna sa *F. verticillioides* upućuju na oprez prilikom eventualnog uvođenja ovakvog sistema gajenja u komercijalnu proizvodnju. Dodatno i zbog toga što se i produkcija fumonizina B₁ u šest od osam Plus-hibrid kombinacija povećala. Negativan i značajan Plus-hibrid efekat na sve kombinacije ZP 2, za razliku od ZP 1 kod kog su dve kombinacije imale značajno nižu koncentraciju FB₁, upućuju na jak materinski efekat na kontaminaciju ovim mikotoksinom.

Efekat ksenija zavisi od toga koji je majčinski, a koji očinski genotip (Liu i sar., 2010), a isto se može reći i za Plus-hibrid efekat. Naime, uočava se da kad je ZP 1st majka, a ZP 2ft otac dolazi do neznatnog povećanja prinosa, dok suprotno dolazi do smanjenja. Obrnuto je za osobine masa hiljadu zrna, broj zrna, kao i sadržaj ulja u zrnu, gde je ZP 1 bolji kao polinator, nego kao CMS hibrid. Sve ovo upućuje da prilikom biranja hibrida koji će sastavljati Plus-hibrid smeš treba ispitati reakciju hibrida i izabratи pravu varijantu, samim tim jer i hibrid polinator *per se* čini smešu. Takođe se uočava da kombinovani efekat CMS i ksenija nije jednostavan i lako predvidiv. Naime, on nije samo kumulativan efekat ova dva



faktora, već postoji mnogo drugih faktora i interakcija koje utiču na dobit u Plus-hibrid smeši. Isto su zaključili i Weingartner i sar. (2002a).

Polinatorske sposobnosti za prinos zrna hibrida koje smo koristili kao opršivače su u jakoj, ali ne i značajnoj vezi sa ovom osobinom kod njih samih. Ovo nam govori da je na osnovu prinosa zrna hibrida *per se* donekle moguće predvideti njihov efekat na ovu osobinu, što je u suprotnosti sa Becker-om (1993). On smatra da je odabir genotipova na osnovu njihove opšte kombinacione sposobnosti (OKS) pouzdaniji nego na osnovu njihovih osobina, a do istog zaključka došli su i Weingartner i sar. (2002a). Iako nije bilo značajnosti, može se zaključiti da je ZP 2ft dobar polinator za prinos zrna. Srednje jaka, neznačajna korelacija između OPS za masu hiljadu zrna i ove osobine kod hibrida polinadora nam ukazuje da je za ovu osobinu pouzdanije birati polinatore na osnovu OPS. Najbolji hibrid polinator za masu zrna je ZP 3ft, koji posle ZP 5ft ima najmanju masu zrna *per se* od svih polinatora, što potvrđuje prethodnu konstataciju. Bulant i Gallais (1998), kao i Munsch (2008) su dobili slične podatke, dok su Odhiambo i Compton (1987) i Seka i Cross (1995) dobili povećanje mase zrna odabirom polinadora sa težim i krupnijim zrnima. Najvišu vrednost OPS za broj zrna po m^2 ima ZP 5ft, a kao i za prethodnu osobinu, korelacija je srednje jaka i neznačajna. U našem istraživanju je ANOVA pokazala značajnu interakciju između CMS i polinadora za sadržaj ulja i proteina, pa je malo teže izdvojiti pojedinačne doprinose ispitivanih efekata na ove dve osobine. Lambert i sar. (1998) su utvrdili da opršivanje polinatorom sa visokim sadržajem ulja u zrnu dovodi do povećanja ulja u zrnu majke. Hibrid ZP 3ft ima viši sadržaj ulja u zrnu *per se* od hibrida ZP 4ft, ali je za razliku od njega, pokazao značajno lošiju OPS za ovu osobinu, pa ovakvi rezultati nisu u skladu sa rezultatima pomenutih autora. Isto tako, biranje polinadora za sadržaj proteina i skroba u zrnu pouzdanije je na osnovu njihovih OPS nego osobina *per se*. Hibridi majke se razlikuju po svojoj kombinacionoj sposobnosti za ove tri osobine: ZP 1st je bolji kombinator za sadržaj ulja i proteina u zrnu, dok je ZP 2st bolji za sadržaj skroba. OPS za zaraženost zrna sa *F. verticillioides* i koncentraciju FB₁ se može koristiti za odabir dobrih hibrida polinadora, a najgori opšti polinator za ove osobine je ZP 5ft, jer je najviše uticao na pogoršanje zdravstvenog stanja zrna. Generalno, bez obzira na dobru OPS za broj zrna, ZP 5ft je najlošiji polinator od



svih korištenih hibrida, a polinatorska sposobnost hibrida je adekvatan način da se procene karakteristike hibrida kao potencijalnih oprašivača u Plus-hibrid smeši.

Genetička distanca (GD) između ispitivanih hibrida dobijena na osnovu analize SSR markerima slaže se sa saznanjima koja imamo o poreklu hibrida, a dendrogram je, takođe, u iste klastere grupisao najsrodnije hibride. Međutim, GD između korišćenih hibrida nije relevantna za predviđanje stepena efekta ksenija u Plus-hibridu. Naime, ZP 5ft je genetički najudaljeniji hibrid od oba majčinska hibrida, ali Plus-hibrid kombinacije sa njim za sve ispitivane osobine, sem za broj zrna po m², su najlošije. Do povećanja u broju zrna je, kao što je već napomenuto, verovatno došlo zbog povoljne sinhronizacije polinacije i svilanja između ZP 5ft i majčinskih hibrida. Razlika između genotipova u Plus-hibrid smeši je poželjna, ali ne i relevantna za efekat ksenija. Ovo se ne slaže sa hipotezom da je efekat ksenija povezan sa nivoom heterozigotnosti zrna, kao što tvrde Bullant i Gallais (1998) i Bulant i sar. (2000). Na dobijene vrednosti GD moglo je uticati nekoliko faktora, kao što su broj markera i njihov raspored po genomu (Munsch, 2008). U istraživanju je korišćeno 21 markera, a prema Souza i sar. (2008) 16 SSR markera je dovoljno da se genotip tačno analizira. Uvođenje dodatnih markera ne bi bitno promenilo rezultate genetičke distance između hibrida u našem istraživanju. Pored toga, oni su bili raspoređeni na devet od deset hromozoma kukuruza. Munsch (2008) je analizom 30 genotipova sa 20 SSR markera dobila 71 alel, što je mnogo manje nego broj alela koji smo mi dobili. Ona je, takođe, utvrdila da efekat ksenije ne zavisi od GD između hibrida u Plus-hibrid kombinaciji. Podaci o vezi između genetičke distance inbred linija i heterozisa F1 generacije su kontradiktorni. Betran i sar. (2003) i Mladenović-Drinić i sar. (2012) su dobili pozitivnu korelaciju između genetičke distance linija i rezultujućeg heterozisa, a neka istraživanja su pokazala nikakvu ili slabu korelaciju (Xu i sar., 2004; Kiula i sar., 2007). Godshalk i sar. (1990) i Smith i sar. (1990) tvrde da su molekularni markeri pouzdani kod svrstavanja genotipova u različite heterotične grupe, ali nisu našli korelaciju između genetičke distance i performansa F1 generacije. Možda hibridi iz našeg istraživanja imaju visok stepen genetičke sličnosti, pa heterozis u F1 zrnu nije mogao doći do izražaja, već bi eventualno trebalo ispitati zavisnost efekta ksenija i GD kod hibrida iz različitih semenskih kompanija. Međutim, Munsch (2008) je



ukazala na veću genetičku sličnost između nekih hibrida poreklom iz različitih selekcionih kompanija nego iz istih. Objasnjenje za ovo je u sličnom genetičkom poreklu komercijalnih genotipova kukuruza iz Evrope, nastojanje da se zadrži koliki-toliki genetički diverzitet, kao i razmena semenskog materijala između selekcionih kuća. Dakle, nasuprot našoj prepostavci, genetička distanca između hibrida se ne može koristiti za predviđanje efekta ksenija u Plus-hibrid kombinaciji i verovatnije je da ovaj efekat više zavisi od polinatorskih sposobnosti samog hibrida, kao i osobina majke.



7. ZAKLJUČAK

Na osnovu trogodišnjeg ispitivanja odabranih genotipova hibrida kukuruza, sprovedenih od 2009. do 2011. godine, i dobijenih rezultata o morfološkim i najvažnijim agronomskim osobinama, kao i hemijskih, fitopatoloških i molekularnih analiza došlo se do sledećih zaključaka:

i. Efekat CMS:

- a) Kod savremenih hibrida, koji imaju sitnije metlice nego stariji genotipovi, pri zakidanju metlica ne dolazi do značajnog ispoljavanja efekta sterilnosti, već se ovaj efekat danas uglavnom svodi na razliku između normalne (fertilne) i sterilne citoplazme.
- b) Citoplazmatična muška sterilnost nije uticala na promenu u vrednosti ASI, tj. nije dobijena značajna razlika u početku sviljanja između sterilne i fertilne verzije istog hibrida.
- c) Prinos zrna se nije značajno promenio pod uticajem CMS, a do povećanja od 0,61 t/ha je došlo samo kod ZP 2. Razlog za ovo je verovatno taj što su hibridi bili u S tipu sterilnosti, za koji su neki autori utvrdili da najmanje utiče na promenu u prinosu zrna.
- d) CMS različito utiče na masu hiljadu zrna i broj zrna po m² i u interakciji je sa genotipom majke.
- e) Sterilnost ne smanjuje kvalitet zrna kukuruza, štaviše utvrđen je i pozitivan efekat na sadržaj ulja u zrnu (0,21%) ZP 2 hibrida.
- f) CMS, verovatno posredno, utiče na promenu u osjetljivosti genotipova na vrstu *F. verticillioides*, mada ne menja značajno i koncentraciju fumonizina u zrnu.
- g) Godina ispitivanja, polinator, kao i majčinski genotip mogu modifikovati efekat CMS na osobine kukuruza, i generalno ZP 2 je jače odreagovao na ovaj efekat nego ZP 1.

ii. Efekat ksenija:

- a) Strani oprašivači su imali različit efekat na majčinske hibride i nije utvrđen pozitivan uticaj na osobinu prinos zrna kukuruza.
- b) Ksenije mogu značajno pozitivno da utiču na masu hiljadu zrna i broj zrna po jedinici površine.



- c) Neizgoeno opršivanje može uticati na povećanje udela ulja u zrnu, međutim ovo zavisi i od sadržaja ulja u zrnu majčinskog hibrida. Sadržaj proteina u zrnu se ne menja pod uticajem stranog polinatora, dok se sadržaj skroba menja posredno, preko promene udela ulja u zrnu.
 - d) Iako ANOVA nije pokazala značajnost, možemo tvrditi da ksenija utiče na povećanje, kako kontaminacije zrna kukuruza sa *F. verticillioides*, tako i koncentracije fumonizina B₁ u zrnu.
 - e) Postoji razlika u intenzitetu efekta ksenije na sterilnu i fertilnu verziju istog hibrida, koja je posledica interakcije sterilne citoplazme i polinatora. Generalno posmatrajući, CMS ublažava efekat ksenija na većinu ispitivanih osobina.
 - f) Godina i materinski hibrid mogu uticati na efekat ksenija.
- iii. Plus-hibrid efekat:
- a) Kombinovani efekat CMS i ksenija na najbitnije osobine kukuruza nije bio pozitivan i značajan koliko se očekivalo, ali potencijal za ovakav sistem proizvodnje postoji.
 - b) Pozitivan efekat na broj zrna po jedinci površine - povećanje od oko 300 zrna po m² - koji je dobijen može biti iskorišten i u semenskoj proizvodnji hibrida kukuruza.
 - c) U Plus-hibrid smeši ne bi trebalo da dođe do smanjenja kvaliteta zrna, ali to najviše zavisi od majčinskog genotipa. Štaviše, može doći i do povećanja udela ulja u zrnu, što bi povećalo kvalitet istog.
 - d) Treba biti oprezan prilikom eventualne primene ovakvog sistema gajenja kukuruza u komercijalnoj proizvodnji, jer u zavisnosti od hibrida u smeši može doći do povećane zaraženosti zrna sa *F. verticillioides* i povećanja produkcije FB₁.
 - e) Plus-hibrid efekat je složena pojava i ne predstavlja samo kumulativni efekat CMS i ksenija, pa se i ne može lako predvideti na osnovu njihovih pojedinačnih uticaja.
 - f) Hibrid ZP 2 je intenzivnije reagovao na oba efekta, kako pojedinačna tako i kombinovana. U skladu sa ovim najbolja Plus-hibrid



kombinacija je ZP 2st × ZP 4ft zbog toga što bi u potencijalnoj Plus-hibrid smeši imala u proseku za 0,46 t/ha po hektaru viši prinos zrna i značajno viši sadržaj ulja u zrnu, za 0,25%, u odnosu na ZP 2ft × ZP 2ft.

- g) Opšta polinatorska sposobnost hibrida polinatora je adekvatno merilo njihovog performansa u Plus-hibrid smeši i odabir oprašivača bi se pre trebao vršiti na osnovu ovog parametra nego na osnovu osobina polinatora *per se*.
- h) Efekat ksenija u Plus-hibrid kombinaciji nije u korelaciji sa genetičkom distancicom između hibrida i odabirom genetički udaljenih genotipova neće se povećati dobit od stranog opašivanja. Ovaj efekat najviše zavisi od OPS hibrida polinatora.



8. LITERATURA

- Airy, J.M. (1950): Current problems of detasseling. Report of the 5th Annual Hybrid Corn Industry Research Conference 5: 7-17.
- Anderson S.R., Lauer M.J., Schoper, J.B., Shibles, R.M. (2004): Pollination timing effects on kernel set and silk receptivity in four maize hybrids. *Crop Science* 44: 464-473.
- Andrade, F.H., Cirilo, A.G., Uhart, S.A., Otegui, M.E. (1996): *Ecofisiología del cultivo de maíz*. Editorial la Barrosa and DekalbPress, Buenos Aires, Argentina:292.
- Balestre, M., Von Pinho, R.G., Souza, J.C., Lima, J.L. (2008): Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellite markers. *Genetics and Molecular Research* 7: 695-705.
- Bassetti, P., Westgate, M.E. (1994): Floral asynchrony and kernel set in maize quantified by image analysis. *Agronomy Journal* 86: 699-703.
- Becker, H. (1993): *Pflanzenzüchtung*. UTB für Wissenschaft/Uni- Taschenbücher, Stuttgart, Germany.
- Beckett, J.B. (1971): Classification of male-sterile cytoplasms in maize. *Crop Science* 11: 724-727.
- Belicuas, P.R., Guimarães, C.T., Paiva, L.V., Duarte, J.M., Maluf W.R., Edilson, P. (2007): Androgenetic haploids and SSR markers as tools for the development of tropical maize hybrids. *Euphytica* 156: 95–102.
- Betran, F.J., Ribaut, J.M., Beck, D., de Leon, D.G. (2003): Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and nonstress environments. *Crop Science* 43:797-806.
- Borgeson, C. (1943): Methods of detasseling and yield of hybrid seed corn. *Journal of American Society of Agronomy* 35 (11):912-922.
- Bruce, R.R., Sanford, J.O., Myhre, D.L. (1966): Soil water and nitrogen influence on growth and fruiting of a cytoplasmic male-sterile corn hybrid and its fertile counterpart. *Agronomy Journal* 58:631-634.



- Bulant, C., Gallais, A. (1998): Xenia effects in maize with normal endosperm: I. Importance and stability. *Crop Science* 38: 1517-1525.
- Bulant, C., Gallais, A., Matthys-Rochon, E., Prioul, J.L. (2000): Xenia effects in maize with normal endosperm: II. Kernel growth and enzyme activities during grain filling. *Crop Science* 40: 182-189.
- Bush, B. J., Carson, M. L., Cubeta, M. A., Hagler, W. M., Payne, G. A. (2004): Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. *Phytopathology* 94:88-93.
- Byerlee, D., Lopez-Pereira, M.A. (1994): Technical change in maize production: A global perspective. CIMMYT Economics Working Paper 94-02, CIMMYT, Mexico.
- Carcova, J., Uribelarrea, M., Borras, L., Otegui, M.E., Westgate, M.E. (2000): Synchronous pollination within and between ears improves kernel set in maize. *Crop Science* 40:1056-1061.
- Chase C.D., Gabay-Laughnan, S. (2004): Cytoplasmic male sterility and fertility restoration by nuclear genes. pp. 593-621. In: Molecular biology and biotechnology of plant organelle (Daniell, H., Chase, C.D. eds.). Springer. Netherlands.
- Chinwuba, P.M., Grogan, C.O., Zuber, M.S. (1961): Interaction of detasseling, sterility and spacing on yields of maize hybrids. *Crop Science* 1:279-281.
- Coors, J. G., Pandey, S. (1999): The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, WI.
- Craig, W.F. (1977): Production of hybrid corn seed. pp. 671-719. In: Corn and Corn Improvement (Sprague, G.F., ed.). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- Crow, J.F. (1998): 90 years ago: the beginning of hybrid maize. *Genetics* 148:923-928



- Dall'Asta, C., Falavigna, C., Galaverna, G., Battilani, P. (2012): Role of Maize Hybrids and Their Chemical Composition in *Fusarium* Infection and Fumonisin Production. *J. Agricultural Food and Chemistry* 60 (14): 3800–3808.
- Denney, J.O. (1992): Xenia includes metaxenia. *HortScience* 27:722–728.
- Dewey, R., Levings, C.S. III, Timothy, D. (1987): A mitochondrial protein associated with cytoplasmic male sterility in the T cytoplasm of maize. *Proceedings of National Academy of Science USA* 84: 5374-5378.
- Dewey, R.E., Korth, K.L. (1994): Molecular aspects of cytoplasmic male sterility in maize. pp. 403-416. *In: Maize* (Bajaj, Y.P.S., ed.). Springer-Verlag, Berlin, W. Ger., Biotechnology in agriculture and forestry.
- Dill, C.L., Wise, R.P., Schnable, P.S. (1997): Rf8 and Rf* mediate unique T-urf13-transcript accumulation, revealing a conserved motif associated with RNA processing and restoration of pollen fertility in T-cytoplasm maize. *Genetics* 147 (3):1367-1379.
- Doebley, J. (2004): The genetics of maize evolution. *Annual Review of Genetics* 38:37-59.
- Doehlert, D.C., Lambert, R.J. (1991): Metabolic characteristics associated with starch, protein, and oil deposition in developing maize kernels. *Crop science* 31:151-157.
- Drinic Mladenovic S., Kostadinovic, M., Ristic, D., Stevanovic, M., Camdžija, Z., Filipovic, M., Kovacevic, D. (2012): Correlation of yield and heterosis of maize hybrids and their parental lines with genetic distance based on SSR markers. *Genetika* 44(2): 399 - 408.
- Duvick, D.N. (1957): Yields and other agronomic characteristics of cytoplasmically pollen sterile corn hybrids compared to their normal counterparts. *Agronomy Journal* 49:121–126.
- Duvick, D.N. (1958): Yields and other agronomic characteristics of cytoplasmically pollen sterile corn hybrids, compared to their normal counterparts. *Agronomy Journal* 50:121-125.



- Duvick, D.N. (1959): The use of cytoplasmic male-sterility in hybrid seed production. *Economic Botany* 13:167-195.
- Duvick, D.N. (1965): Cytoplasmic pollen sterility in corn. *Advances in Genetics* 13: 1-56.
- Duvick, D.N. (1999): Heterosis: feeding people and protecting natural resources. pp. 19–29. In: *The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops* (Coors, J.G. and Pandey, S., eds). American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, and Soil Science Society of America.
- Duvick, D.N. (2001): Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. *Nature Reviews Genetics* 2: 69–74.
- Duvick, D.N. (2005): Genetic progress in yield of united states maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 50: 193-202.
- East, E.M. (1908): Inbreeding in corn. *Connecticut Agricultural Experimental Station Bulletin*: 419-428.
- Eckchardt, R.C. (1954): Techniques in using male sterile cytoplasm and restorer gene in corn. *American Society of Agronomy Abstract*: 67.
- Edge, M. (1997): Seed management issues for “TopCross High Oil Corn”. pp 49-55. In: *Proceedings of the Nineteenth annual Seed Technology conference* (Cortes, J.E. eds). Seed Science Centre, Iowa State University, USA.
- Edmeades, G. O., Bolanos, J., Elings, A., Ribaut, J. M., Banziger, M., Westgate, M. E. (2000): The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize. pp. 43-73. In: *Physiology and modeling kernel set in maize* (Westgate, M. E. und K. J. Boote, eds). Proceedings of a symposium of the CSSA and ASA held in Baltimore, Maryland, USA, 18-22 October, 1998., CSSA Special Publication Number 29.
- Everett, H.L. (1960): Effect of cytoplasms and Rf gene in maize. *Agronomy Journal* 52:215-216.
- FAOSTAT (2010): Statistical databases and data-sets of the Food and Agriculture Organization of the United Nations.



LITERATURA

- Farrell, A.E., Plevin, R.J., Turner, B.T., Jones, A.D., O'Hare, M., Kammen D.M. (2006): Ethanol can contribute to energy and environmental goals. *Science* 311:506-508.
- Feil, B., Schmid, J. E. (2002): Dispersal of maize, wheat and rye pollen. A contribution to determining the necessary isolation distances for the cultivation of transgenic crops. Shaker Verlag, Aachen, Germany.
- Feil, B., Weingartner, U., Stamp, P. (2003): Controlling the release of pollen from genetically modified maize and increasing its grain yield by growing mixtures of male-sterile and male-fertile plants. *Euphytica* 130:163-165.
- Focke, W. O. (1881): Die Pflanzen-Mischlinge: Ein Beitrag zur Biologie der Gewächse, pp. 510-518. Borntraeger, Berlin, Germany.
- Forde, B.G., Leaver, C.J. (1980): Nuclear and cytoplasmic genes controlling synthesis of variant mitochondrial polypeptides in male-sterile maize. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 77 (1):418-422.
- Gabay-Laughnan, S. J., Laughnan, J. R. (1994): Male sterility and restorer genes in maize. pp. 418–423. In: *The Maize Handbook* (Freeling, M. and Walbot V., eds). Springer-Verlag, New York.
- Gabay-Laughnan S., Zabala, G., Laughnan, J.R. (1995): S-type cytoplasmic male sterility in maize. pp. 395-432. In: *The Molecular Biology of Plant Mitochondria*. (C.S. Levings III, Vasil, I.K., eds.), Kluwer Academic, Dordrecht.
- Gabay-Laughnan, S., Kuzmin, E.V., Monroe, J., Roark, L., Newton, K.J. (2009): Characterization of a novel thermosensitive restorer of fertility for cytoplasmic male sterility in maize. *Genetics* 182:91-103
- Gardner, H.D., Williams, W.P., Windham, G.L. (2006): Effect of xenia on *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin accumulation in maize inbreds. *Crop Science* 46:2151-2154.



- Godshalk, E.B., Lee, M., Lamkey, K.R. (1990): Relationship of restriction fragment length polymorphisms to single-cross hybrid performance of maize. TAG 80:273-280.
- Gracen, V., Pour, A., Earle, E., Gregogy, P. (1979): Cytoplasmic inheritance of male sterility and pest resistance. Proceedings of 34th Annual Corn and Sorghum Research Conference 34: 76–91.
- Gracen, V.E. (1982): Types and availability of male sterile cytoplasm. pp. 221-224. In: Maize for biological research. (Sheridan, W. F., ed.). Plant Molecular Biology Association, Charlottesville, Virginia.
- Grogan, C.O., Francis, C.A., Sarvela, P.A. (1971): Effects of cytoplasmic male sterility and restoring factors on yield and morphology in inbred and hybrid maize. Crop Science 11: 295-297.
- Hall, A.J., Vilella, F., Trapani, N., Chimenti, C. (1982): The effects of water stress and genotype on the dynamics of pollen-shedding and silking in maize. Field Crops Research 5 (4):349-363.
- Hallauer, A.R. (2007) History, contribution, and future of quantitative genetics in plant breeding: Lessons from maize. p. 5-19. In: International plant breeding symposium, honoring John W. Dudley (B. Albrecht, R. Bernardo, B. Godshalk, K. Lamkey, and R. Ortiz, ed.). Crop Science Society. Madison, WI.
- Hanson, M.R., Bentolila, S. (2004): Interactions of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development. Plant Cell 16:154–169.
- Headrick, J.M., Pataky, J.K. (1991): Maternal influence on the resistance of sweet corn lines to kernel infection by *Fusarium moniliforme*. Phytopathology 81:268-274.
- Hess, D. (1990): Die Blute. Eine Einführung in Struktur und Funktion, Ökologie und Evolution der Blüten. Mit Anleitungen zu einfachen Versuchen. Ulmer, Stuttgart, Germany.



- Hirel, B., Martin, A., Terce-Laforgue, T., Gonzalez-Moro, M.-B., Estavillo, J-M. (2005): Physiology of maize I: A comprehensive and integrated view of nitrogen metabolism in a C4 plant. *Physiologia Plantarum* 124: 167–177.
- Hoekstra, G.J., Kannenberg, L.W., Christie, B.R. (1985): Grain yield comparison of pure stands and equal proportion mixtures for seven hybrids of maize. *Canadian Journal of Plant Science* 65: 471-479.
- Jones, D.F., Stinson, H.T.Jr., Khoo, U. (1957): Pollen restoring genes. *Connecticut Agricultural Experimental Station Bulletin* 610: 1-43.
- Josephson, L.M., Morgan, T.E., Arnold. J.M. (1978): Genetics and inheritance of fertility restoration of male-sterile cytoplasms in corn. *Proceedings of the 33rd Annual Corn and Sorghum Research Conference* 33:48-59.
- Kaeser, O. (2002): Physiological and agronomic traits of cytoplasmic male sterility in maize (*Zea mays* L) and its molecular discrimination. PhD dissertation. Agronomy and plant breeding, Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.
- Kaeser, O., Chowchong, S., Stamp, P. (2003a): Influence of silk age on grain yield and yield components of normal and male-sterile maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 48: 171-176.
- Kaeser, O., Weingartner, U., Camp, K.-H., Chowchong, S., Stamp, P. (2003b): Impact of different CMS types on grain yield of dent x flint hybrids of maize (*Zea mays* L.). *Maydica* 48:15-20.
- Kálmán, L., Pintér, L., Pintér, Z. (1985): Comparative study on major agronomic characteristics of male fertile (normal) and cytoplasmic male sterile analogues in maize (*Zea mays* L.). *Acta Agronomica Hungarica* 34:128-134.
- Kamps, T.L., McCarty, D.R., Chase, C.D. (1996): Gametophyte genetics in *Zea mays* L.: dominance of a restoration-of-fertility allele (Rf3) in diploid pollen. *Genetics* 142:1001-1007.
- Kaul, M.L.H. (1988): Male sterility in higher plants. Springer-Verlag, Berlin, Germany.



- Kemble, R., Bedrock, R. (1980): Low molecular weight circular and linear DNA in mitochondria from normal and male sterile cytoplasm in maize. *Nature* 284: 565–566.
- Kiesselbach, T.A., Cook, G.C. (1924): The relative effects of foreign pollen upon the kernel weight of commercial varieties and selfed strains of corn. *Journal of American Society of Agronomy* 16: 30-36.
- Kiesselbach, T.A. (1926) The immediate effect of gametic relationship and of parental type upon the kernel weight of corn. *Nebraska Agricultural Experimental Station Research Bulletin* 33:1-69.
- Kiesselbach, T.A. (1945): The detasseling hazard of hybrid seed corn production. *Journal of American Society of Agronomy* 37 (10):806-811.
- Kiesselbach, T. A. (1960): The significance of xenia effects on the kernel weight of corn. University of Nebraska, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station, Lincoln, Neb. 30 p.
- Kiula, B.A., Lyimo, N.G., Botha, A.M. (2007): Association between AFLP-based genetic distance and hybrid performance in tropical maize. *Plant Breeding* 127:140-144.
- Korth, K.L., Kaspi, C.I., Siedow, J.N., Levings, C.S. III (1991): URF13, a maize mitochondrial pore-forming protein, is oligomeric and has a mixed orientation in *Escherichia coli* plasma membranes. *Proceedings of National Academy of Science USA* 8: 10865-10869
- Lambert, R.J., Alexander, D.E., Han, Z.J. (1998): A high oil pollinator enhancement of kernel oil and effects on grain yields of maize hybrids. *Agronomy Journal* 90: 211-215.
- Laser K.D., Lersten N.R. (1972): Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms. *Botanical Review* 38:425-454.
- Laughnan, J.R., Gabay Laughnan, S.J., Carlson, J.E. (1981): Characteristics of *cms-S* reversion to male fertility in maize. pp. 93-114. *Stadler Genetics Symposium* 13.



- Laughnan, J., Gabay-Laughnan, S. (1983): Cytoplasmic male sterility in maize. Annual Review of Genetics 17: 27-48.
- Leaver, C.J., Gray, M.W. (1982): Mitochondrial genome organization and expression in higher plants. Annual Review of Plant Physiology 33:373-402.
- Letchworth, M.B., Lambert, R.J. (1998): Pollen parent effects on oil, protein, and starch concentration in maize kernels. Crop Science 38: 363-367.
- Levings, C.S. III, Brown, G.G. (1989): Molecular biology of plant mitochondria. Cell 56:171-179.
- Levings, C.S. (1993): Thoughts on cytoplasmic male sterility in cms-T maize. Plant Cell 5:1285-1290.
- Lević, J., Stanković, S., Bočarov-Stančić, A., Škrinjar, M., Mašić, Z. (2004): Overview on toxigenic fungi and mycotoxins in Serbia and Montenegro. pp. 201-218. In: An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe (Logrieco, A., Visconti, A., eds), Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Lević, J. (2008): Vrste roda *Fusarium*. Cicero, Beograd, 1226.
- Lim, S.M., Hooker, A.L., Kinsey, J.G., Smith, D.R. (1974): Comparative grain yields of corn hybrids in normal and in Texas male-sterile cytoplasm (cms-T) infected with *Helminthosporium maydis* race T and disease components of cms-T corn hybrids. Crop Science 14: 190-195.
- Liu Z., Peter S.O., Long M., Weingartner U., Stamp P., Käser O. (2002): A PCR assay for rapid discrimination of sterile cytoplasm types in maize. Crop Science 42:566-569.
- Liu, Y.-E., Liu, P., Dong, S.T., Zhang, J.-W. (2010): Hormonal changes caused by the xenia effect during grain filling of normal corn and high-oil corn crosses. Crop Science 50: 215-221.
- Luna, V. S., Figueroa M. J., Baltazar, M. B., Gomez, L. R., Townsend, R., Schoper, J. B. (2001): Maize Pollen Longevity and Distance Isolation Requirements for Effective Pollen Control. Crop Science 41:1551-1557.



- Mackenzie S., He S., Lyznik A. (1994): The elusive plant mitochondrion as a genetic system. *Plant Physiology* 105(3): 775-780.
- Maklenovic V., Vuckovic, S., Kovacevic, V., Prodanovic, S., Zivanovic, Lj. (2009): Precipitation and temperature regimes impacts on maize yields. Proceedings of 44th Croatian and 4th International Symposium on Agriculture, 16 – 20. 2. 2009, Opatija, p. 569-573.
- Munkvold, G.P., Desjardins, A.E. (1997): Fumonisins in maize: can we reduce their occurrence? *Plant Disease* 81:556-565.
- Munsch, M. (2008): Yield potential of modern european plus-hybrids and relevance of genetic diversity for xenia in maize (*Zea mays* L.). PhD dissertation. Agronomy and plant breeding, Federal Intsitute of Technology, Zurich, Switzerland.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., Marasas, W. F. O. (1983): Fusarium species. An Illustrated Manual for Identification, The Pennsylvania State University Press, University Park and London, pp. 193.
- Newton, K.J. (1988): Plant mitochondrial genomes: organization, expression and variation. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39:503-532.
- Odhiambo, M.O., Compton, W.A. (1987): Twenty cycles of divergent mass selection for seed size in corn. *Crop Science* 27: 1113-1116.
- Ortiz, R.S., Taba, Chavez Tovar, V.H., Mezzalama, M., Xu, Y., Yan, J., Crouch, J.H. (2010): Conserving and enhancing maize genetic resources as global public goods – A perspective from CIMMYT. *Crop Science* 50: 13-28.
- Perenzin, M., Ferrari, F., Motto, M. (1980): Heritabilities and relationship among grain filling period, seed weight and quality in forty Italian varieties of corn (*Zea mays*, L.). *Canadian Journal of Plant Sciences* 60: 1101-1107.
- Pintér, L. (1986): Effect of rough detasseling on some agronomic traits of maize (*Zea mays* L.) progenies. *Acta Agronomica Hungarica* 35: 279-285.



- Poehlman, J. M., Sleper, D. A. (1995) Breeding field crops. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Poneleit, C.G., Egli, D.B. (1983): Differences between reciprocal crosses of maize for kernel growth characteristics. *Crop Science* 23: 871-875.
- Pring, D., Levings, C., Hu, W., Timothy, D. (1977): Unique DNA associated with mitochondria in S cytoplasm of male sterile maize. *Proceedings of National Academy of Science USA* 74: 2904-2908.
- Pring, D.R., Levings, C.S. (1978): Heterogeneity of maize cytoplasmic genomes among male-sterile cytoplasms. *Genetics* 89:121-136.
- Ragauskas, A.J., Williams, C.K., Davison, B.H., Britovsek, G., Cairney, J., Eckert, C.A., Frederick, W.J. Jr., Hallett, J.P., Leak, D.J., Liotta, C.L. Mielenz, J.R., Murphy, R. (2006): The path forward for biofuels and biomaterials. *Science* 311:484-489.
- Rhoades, M.M. (1933): The cytoplasmic inheritance of male sterility in *Zea mays*. *Journal of Genetics* 27: 71-93.
- Rhoads, D. M., Kaspi, C. I., Levings, C. S. III, Siedow, J. N. (1994): N,N9-dicyclohexylcarbodiimide cross-linking suggests a central core of helices II in oligomers of URF13, the pore-forming T-toxin receptor of cms-T maize mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 91: 8253-8257.
- Robertson, L.A., Kleinschmidt, C.E., White, D.G., Payne, G.A., Maragos, C.M., Holland, J.B. (2006): Heritabilities and correlations of Fusarium ear rot resistance and fumonisin contamination resistance in two maize populations. *Crop Science* 46:353-361.
- Rogers J.S., Edwardson J.R. (1952): The utilization of cytoplasmic male-sterile inbreds in the production of corn hybrids. *Agronomy Journal* 44:8-13.
- Rohlf, F.J. (2000): NTSYS-pc. Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.0 Exeter Software, Setaket, N.Y.



- Sadras, V.O., Hall, A.J., Schlichter, T.M. (1985): Kernel set of the uppermost ear in maize: I. Quantification of some aspects of floral biology. *Maydica* 30:37-47.
- Sanford, J.O., Grogan, C.O., Jordan, H.V., Sarvela, P.A. (1965): Influence of male-sterility on nitrogen utilization in corn, *Zea mays* L. *Agronomy Journal* 57:580-583.
- Sangui, L., Salvador, R.J. (1998): Effect of maize plant detasseling on grain yield, tolerance to high plant density and drought stress. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33: 677-684.
- Schnable P.S., Wise, R.P. (1998): The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration. *Trends in Plant Science* 3:175-180.
- Seka, D., Cross, H.Z. (1995): Xenia and maternal effects on maize kernel development. *Crop Science* 35: 80-85.
- Shull H.G. (1908) The composition of a field of maize. *American Breeders Association Report* 4:296-301.
- Singh, R.K., Choudhary, B.D. (1976): Biometrical techniques in genetics and breeding. Hisar, India: International Bioscience Publishers.
- Sisco, P.H., Gracen, V.E., Everett, H.L., Earle, E.D., Pring, D.R., McNay, J.W., Levings, C.S. III (1985): Fertility restoration and mitochondrial nucleic acids distinguish at least five subgroups among cms-S cytoplasms of maize (*Zea mays* L.). *TAG* 71 (1):5-15.
- Smith, O.S., Smith, J.S.C., Bowen, S.L., Tenborg, R.A., Wall, S.J. (1990): Similarities among a group of elite maize inbreds as measured by pedigree, F1 grain yield, grain yield, heterosis, and RFLPs. *TAG* 80:833-840.
- Souza, S., Carpentieri-Pipolo, V., Ruas, C., Carvalho, V., Ruas, P., Gerage, A. (2008): Comparative analysis of genetic diversity among the maize inbred lines obtained by RAPD and SSR markers. *Brazilian archives of biology and technology* 51: 183-192.



- Stamp, P., Chowchong, S., Menzi, M., Weingartner, U., Käser, O. (2000): Increase in the yield of cytoplasmic male sterile maize revisited. *Crop Science* 40:1586-1587.
- Struik, P.C., Doorgeest, M., Boonman, J.G. (1986): Environmental effects on flowering characteristics and kernel set of maize (*Zea mays* L.). *Netherland Journal of Agricultural Science* 34 (4):469-484.
- Surlan-Momirovic, G., Zoric, M., Kovacevic, V., Prodanovic, S., Vuckovic, S., Maklenovic, V., Jolanka, M., Birkas M. (2009): Impact of Global and Regional Climate Changes on Maize Grain Yield. Book of Abstracts of the IV Congress of the Serbian Genetic Society, 1-5 June 2009, p. 163..
- Thomison, P.R., Geyer, A.B. (1999): Evaluation of TC blend used in high oil maize production. *Plant Varieties and Seeds* 12: 99-112.
- Thomison, P.R., Geyer, A.B., Lotz, L.D., Siegrist, H.J., Dobbels, T.L. (2002): TopCross High-Oil corn production: Agronomic performance. *Agronomy Journal* 94: 290-299.
- Thomison, P.R., Geyer, A.B., Lotz, L.D., Siegrist, H.J., Dobbels, T.L. (2003): Top-cross high oil corn production: select grain quality attributes. *Agronomy Journal* 95:147-154.
- Tollenaar, M., Dwyer, L.M. (1999): Physiology of maize. pp. 169- 204. in: *Crop yield, physiology and processes*, D. L. S. a. C. Hamel (Ed.), Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Tracy, W.F., Everett, H.L., Gracen, V.E. (1991): Inheritance, environmental effects, and partial male fertility in C-type CMS in a maize inbred. *Jornal of Heredity* 82:343-346.
- Troyer A.F. (2004) Background of U.S. hybrid corn II: breeding, climate, and food. *Crop Science* 44:370-380.
- Troyer, A.F. (2006): Adaptedness and heterosis in corn and mule hybrids. *Crop Science* 46:529–543.



- Tsai, C.L., Tsai, C.Y. (1990): Endosperm modified by cross-pollinating maize to induce changes in dry matter and nitrogen accumulation. *Crop Science* 30: 804-808.
- Uribelarrea, M., Carcova, J., Otegui, M.E., Westgate, M.E. (2002): Pollen production, pollination dynamics, and kernel set in maize. *Crop Science* 42:1910-1918.
- Vančetović, J., Vidaković, M., Ignjatović-Micić, D., Nikolić, A., Marković, K., Andđelković, V. (2010): The structure of sterile cytoplasm types within a maize genebank collection. *Russian Journal of Genetics* 44: 1317-1324.
- Vega, C.R.C., Andrade, F.H., Sadras, V.O., Uhart, S.A., Valentinuz, O. (2001): Seed number as a function of growth. A comparative study in soybean, sunflower, and maize. *Crop Science* 41: 748-754.
- Vidaković, M. (1988): Genetics of fertility restauration in cytoplasmic male serility of the C type (cmsC) in maize. *Maydica* 33: 51-64.
- Vidaković, M., Vančetović, J. (1994): Мужскаја стерилност в производстве семјан гибридов. *Кукуруза и сорго* 1: 12-13.
- Vidaković, M.J., Vančetović, Vidaković, M. (1997): Complementary genes Rf4, Rf5 and Rf6 are not unique genetic system for fertility restauration in cmsC of maize (*Zea Mays, L.*) *MNL* 71: 10.
- Vincent, G. B., Woolley, L. G. (1972): Effects of moisture stress at different stages of growth: II. Cytoplasmic male sterile corn. *Agronomy Journal* 64: 599-602.
- Watson, G.C. (1893): Corn-detasselling. Cornell Agriculture Experimental Station Bulletin 61: 312-316.
- Weider, C. (2008): Analysis of multiple aspects of cytoplasmic male sterility (CMS) for its use in maize (*Zea mays L.*) cultivation. PhD dissertation. Agronomy and Plant Breeding, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.
- Weider, C., Stamp, P., Christov, N., Husken, A., Foueilllassar, X., Camp, K.-H., Munsch, M. (2009): Stability of cytoplasmic male sterility in maize under different environmental conditions. *Crop Science* 49:77-84.



- Weiland, R.T. (1992): Cross-pollination effects on maize (*Zea mays L.*) hybrid yields. *Canadian Journal of Plant Science* 72: 27-33.
- Weingartner, U., Käser, O., Long, M., Stamp, P. (2002a): Combining cytoplasmic male sterility and xenia increases grain yield of maize hybrids. *Crop Science* 42:1848-1856.
- Weingartner, U., Prest, T.J., Camp, K.-H., Stamp, P. (2002b): The plus-hybrid system: a method to increase grain yield by combined cytoplasmic male sterility and xenia. *Maydica* 47:127-134.
- Weingartner, U., Camp, K.-H., Stamp, P. (2004): Impact of male sterility and xenia on grain quality traits of maize. *European Journal of Agronomy* 21:239-247.
- Westgate, M. E., Wicks, Z., Barbour, N. (1999): Selecting maize hybrids for increased yield in mixed stands. *Proceedings of the ASA-CSSA-SSSA Annual Meeting*. 31 October 31 - 4 November. Salt Lake City, Utah, USA. Div. C-4, p. 119.
- Westgate, M.E., Lizaso, J., Batchelor, W. (2003): Quantitative relationships between pollen shed density and grain yield in Maize. *Crop Science* 43:934-942.
- White, D. (1999): Fusarium kernel or ear rot. *Compendium of Corn Diseases*. D. White, ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, p. 45.
- Williams, J., Hanafey, J., Rafalski, A., Tingey, S. (1993): Genetic analysis using random amplified polymorphic DNA markers. *Methods in Enzymology* 218: 704-740.
- Wise, R.P., Gobelmann Werner, K., Pei, D., Dill, C.L., Schnable, P.S. (1999) Mitochondrial transcript processing and restoration of male fertility in T-cytoplasm maize. *Journal of Heredity* 90 (3):380-385.
- Xu, S.-X., Liu, J.I.E., Liu, G.-S. (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.



LITERATURA

Zabala, G., Gabay-Laughnan, S., Laughnan, J.R. (1997): The nuclear gene Rf3 affects the expression of the mitochondrial chimeric sequence R implicated in S-type male sterility in maize. *Genetics* 147 (2):847-860.

Biografija autora

Dipl. inž. Sofija Božinović rođena je 13.12.1982. u Beogradu, gde je završila osnovnu i srednju školu. 2001. godine upisala je Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, odsek Ratarstvo i povrtarstvo, koji je završila 2008. godine sa prosečnom ocenom 8,47. 2008. godine upisala je doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Beogradu, modul Ratarstvo i povrtarstvo. Od septembra 2008. godine radi prvo kao mlađi istraživač, a potom kao istraživač-saradnik u Institutu za kukuruz "Zemun Polje" u grupi za selekciju hibrida kukuruza ranih grupa zrenja. Uža oblast interesovanja su joj: citoplazmatična muška sterilnost kod kukuruza, funkcionalnost polena, razvoj dihaploida kod kukuruza, genetički resursi kukuruza i korišćenje mutacija u oplemenjivanju kukuruza.

U periodu od 2009-2010 bila je angažovana na projektu finansiranom od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije pod nazivom: "Uticaj citoplazmatične muške sterilnosti i ksenija na prinos i agronomске osobine kukuruza" (ev. br. TR 20017). Trenutno je učesnik tri projekta: "Genetički resursi kukuruza kao izvor poboljšanog kvaliteta zrna i tolerantnosti prema suši" (ev. br. TR 31028) i "Poboljšanje svojstava kukuruza i soje molekularnim i konvencionalnim oplemenjivanjem" (ev. br. TR 31068), finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, kao i bilateralnog projekta između Narodne Republike Kine i Republike Srbije pod nazivom "Evaluacija genetičkih resursa kukuruza visokog kvaliteta zrna i tolerantnosti prema stresu u Srbiji i Kini".

Kao autor i koautor Sofija Božinović je do sada imala 10 publikacija u međunarodnim i nacionalnim naučnim časopisima, kao i preko 20 saopštenja na međunarodnim i nacionalnim naučnim skupovima.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Софија Божиновић

број уписа 08/25

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

«Утицај цитоплазматичне мушке стерилности и ксенија на принос зрна и агрономске особине кукуруза»

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена 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 интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 03.04. 2013.

Божиновић Софија

Прилог 2.

**Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име и презиме аутора Софија Божиновић

Број уписа 08/25

Студијски програм Пољопривредне науке - Ратарство и повртарство

Наслов рада «Утицај цитоплазматичне мушке стерилности и ксенија на принос зрна и агрономске особине кукуруза»

Ментор проф др Славен Продановић

Потписани Софија Божиновић

изјављујем да је штампана верзија мого докторског рада 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, 03.04. 2013.

Божиновић Софија

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

«Утицај цитоплазматичне мушки стерилности и ксенија на принос зрна и агрономске особине кукуруза»

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 полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 03.04. 2013.

Светозар Марковић

1. Ауторство - Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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. Дозвољавате 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.