

"Zbornik radova", Sveska 41, 2005.

UDK 631.528.6:633.63

**ZNAČAJ GENETIKE, OPLEMENJIVANJA I GENETIČKOG
INŽENJERINGA U POVEĆANJU POTENCIJALA RODNOSTI KOD
ŠEĆERNE REPE I PRODUKTIVOST NS HIBRIDNIH SORTI**

Kovačev, L., Čačić, N., Mezei, Snežana, Nagl, Nevena¹

IZVOD

Povećanje rodnosti kod šećerne repe u najvećoj meri zavisi od hibrida koji se gaji, klimatskih uslova i primenjene agrotehnike gajenja.

U zadnjih nekoliko dekada povećanje prinosa koje se duguje isključivo genotipu, u zemljama EEC je 2% godišnje, što predstavlja nesumljivo veliki uspeh genetičara i oplemenjivača šećerne repe.

To povećanje prinosa ogleda se ne samo povećanjem genetskog potencijala rodnosti već i poboljšanjem otpornosti prema najznačajnijim bolestima i štetočinama. Jedno od najštetnijih obolenja koje je do sada utvrđeno i opisano kod šećerne repe je Rizomanija, a najefikasnija mera borbe je stvaranje tolerantnih ili otpornih hibridnih sorti.

Najnovije NS-hibridne sorte šećerne repe Sara, Lara, Drena, Darija i NS-Hy-031R koje su otporne prema rizomaniji u ogledima pokazuju visok genetički potencijal za najvažnije kvantitativne osobine.

KLJUČNE REČI: šećerna repa, genetika, oplemenjivanje, Rizomanija, hibridne sorte.

Uvod

Smatra se da je šećerna repa *Beta vulgaris* L. jedna od najproduktivnijih gajenih biljaka u severnim agroekološkim uslovima gajenja (Fisher, 1989) i da ju je u pravom smislu te reči stvorila nauka. Ona je jedna od najmlađih "glavnih" gajenih biljaka, koja se za proizvodnju šećera nije gajila u praiistorijsko vreme.

Koristeći saznanja do kojih je došla fundamentalna nauka u genetici i oplemenjivanju šećerne repe, mnogo češće nego kod drugih gajenih biljaka u potpunosti je menjana genetička kompozicija gajenih sorti. Promene su

¹ Dr Lazar Kovačev, naučni savetnik, dr Nikola Čačić, naučni savetnik, dr Snežana Mezei, naučni savetnik,

uglavnom doprinele povećanju genetskog potencijala rodnosti, otpornosti prema bolestima i ekonomičnosti proizvodnje.

Šta je sve poboljšano u oplemenjivanju i proizvodnji šećerne repe od početka gajenja do danas?

Od momenta kada je nemački hemičar Andreas Marqgraf 1747. godine ustanovio da je šećer iz repe identičan šećeru iz šećerne trske, da se može ekstrahovati i koristiti u ishrani, započeo je intenzivniji rad na genetici i oplemenjivanju šećerne repe. Veliki napredak u povećanju sadržaja šećera kod šećerne repe nastao je kada Vilmorin 1850. godine u Francuskoj uvodi novu metodu selekcije, progeni test, koja je obuhvatila individualnu i masovnu analizu korena polarimetrom na sadržaj šećera, proveravajući potomstva u narednim generacijama. Na taj način stvorene su sorte sa oko 13-17% šećera. Smatra se da su te sorte poslužile kao ishodni materijal za sve do sada stvorene. Stalnim odabiranjem superiornih genotipova, planskom hibridizacijom i rekombinacijama poželjnih osobina, stvorene su prve sortne populacije šećerne repe, koje su po svojim osobinama prevazilazile rodonačelnike iz kojih su nastale.

Sledeći krupan korak u poboljšanju proizvodnih svojstava šećerne repe je pronalazjenje poliploidije. Iako tetraploidi dobijeni primenom kolhicina nisu bili bolji od ishodnog diploidnog materijala triploidi, dobijeni ukrštanjem diploida i tetraploida, po svojim proizvodnim karakteristikama prevazilaze oba roditelja.

Napredak u ekonomičnosti proizvodnje šećerne repe postignut je kada su Bordonos i Savitski u SSSR 1934. i Savitski u USA 1950. pronašli monogermno seme u multigernim populacijama. Pojava i stabilizacija monogermnosti, koja je genetski kontrolisana (jedan recesivan gen), omogućila je uvođenje potpune mehanizacije sa minimalnim učešćem ručnog rada. Upravo iz tog razloga monogermne sorte su brzo prihvaćene od strane proizvodnje, iako u prvo vreme neke od njih, kako po proizvodnim tako i po tehnološkim osobinama, nisu bile na nivou multigernih anizoploidnih sorti.

Koristeći pozitivno iskustvo oplemenjivača kukuruza u kreiranju hibrida, oplemenjivači šećerne repe pokušali su da stvore hibride. Pošto je šećerna repa tipična stranooplodna biljka sa dvopolnim cvetovima, za stvaranje hibrida neophodan je podesan izvor muške sterilnosti. Do sada su kod šećerne repe otkrivena dva osnovna tipa muške sterilnosti, citoplazmatko-nuklerana i nuklearna (Oven, 1954). Muška srilnost koja kombinuje citoplazmatske i nuklearne faktore jedino je podesna za stvaranje hibrida, jer se na ovaj način, uzimajući seme sa majčinskih komponenti, može dobiti 100% hibridno potomstvo. Na taj način koristeći razne metode selekcije, gene za kontrolu monogermnosti i muške sterilnosti kreirane su današnje monogermne triploidne ili diploidne hibridne sorte koje su u znatnoj meri povećale produktivnost i ekonomičnost gajenja šećerne repe.

Mogućnosti daljeg povećanja genetičkog potencijala rodnosti klasičnim metodama oplemenjivanja

Poboljšanje poljske klijavosti - Produženje vegetacije kod šećerne repe u principu dovodi do povećanja ukupne biomase jer je dužina vegetacije u pozitivnoj korelaciji s prinosem korena, a u nekim slučajevima i sa sadržajem

šećera. Produženje perioda vegetacije može se indirektno postići na dva načina: selekcijom genotipova koji imaju osobinu klijavosti na nižim temperaturama, ili selekcijom genotipova sa visokom energijom klijanja.

Otpornost prema prorastanju - U slučaju rane setve ili hladnog proleća, što je slučaj kod nas, visoka tolerantnost prema prorastanju je neophodna. Zahvaljujući kvantitativnoj genetičkoj osnovi otpornosti prema prorastanju, svaki od roditelja budućeg hibrida unosi različite i komplementarne gene. U ograničenim dozama ti geni ne mogu da spreče prorastanje, ali u duplim ili trostrukim dozama (triploidni hibridi) oni daju visoku tolerantnost prema prorastanju, čak i u slučajevima jesenje i zimske setve u području mediterana i Kaliforniji.

Povećanje sadržaja šećera i akumulacija šećera u korenu - Sa ovim nivoom teoretskih i praktičnih saznanja, najmanja mogućnost povećanja genetičkog potencijala nalazi se kod sadržaja šećera. Značajnije povećanje sadržaja šećera moguće je ostvariti jedino izmenom saharoze u neke druge šećere.

Promena žetvenog indeksa i povećanje akceptora asimilata - Šećerna repa u toku vegetacije stvara veliki broj listova na čije se obrazovanje troši dosta hranljivih materija iz korena. Istraživanja velikog broja autora ukazuju da repa može da ostvari visok prinos sa samo 6-8 pari listova. Noviji hibridi, koji su namenjeni vrlo intenzivnoj proizvodnji i agrotehnici, poseduju tu osobinu i po potencijalu rodnosti premašuju dosadašnje hibride.

Izmena položaja listova - Kod gajenih biljaka, koje se gaje u gustim populacijama, uspravni (erektofilni) položaj lista može da ima presudnu ulogu u povećanju potencijala rodnosti. Uspravni položaj listova ima prednost nad položenim ili horizontalnim položajem zbog bolje penetracije svetlosti, a samim tim se povećava produktivnost fotosinteze. Uspravan položaj lista ne osigurava istovremeno i superiornost u proizvodnim osobinama.

Promena oblika korena - Mnogi istraživači su istakli da koren šećerne repe može, da pretrpi značajnu izmenu oblika u cilju povećanja genetskog potencijala za prinos. Povećanje potencijala za prinos ići će u postepenu transformaciju šećerne repe od kupastog u valjkasti oblik. Kada bi repa imala oblik valjka, genetički potencijal za prinos teoretski bi se mogao povećati i do tri puta. Ova ideja može na prvi pogled da izgleda dosta nerealna ili neizvodljiva, ali ne i nemoguća ako se ima u vidu da stočna repa ima oblik vrlo sličan zamišljenom idiotipu.

Modeliranje oblika korena za različite uslove proizvodnje (intenzivna-ekstenzivna), različit tip zemljišta, različiti ekološki uslovi gajenja, u budućnosti će zauzimati značajno mesto u svakom ozbiljnijem oplemenjivačkom programu.

Poboljšanje tehnološkog kvaliteta - Svi oplemenjivači u procesu selekcije vode računa o tehnološkom kvalitetu selekcionog materijala, a naročito o tehnološkom kvalitetu eksperimentalnih i gajenih hibrida. Poboljšanje odnosa šećeri/nešećeri, smanjenje štetnih elemenata kao što su N; K; Na, dovodi do jednostavnije i bolje ekstrakcije i kristalizacije šećera u procesu prerade, a samim tim i do povećanja prinosa šećera kao finalnog produkta u proizvodnji šećerne repe.

Otpornost prema bolestima - Od niza bolesti koje predstavljaju manji ili veći problem u proizvodnji šećerne repe ovom prilikom biće pomenute dve: pegavost lista šećerne repe i Rizomanija, koje su ekonomski najznačajnije.

Pegavost lista šećerne repe - Izaziva je parazitna gljiva *Cercospora beticola* Sacc. koja je stalni pratilac proizvodnje šećerne repe u Srbiji i Crnoj Gori i zemljama severne i centralne Evrope. Otpornost uslovljavaju veći broj minor gena sa neadaptivnim dejstvom. Visoka otpornost u F₁ generaciji uglavnom se može dobiti kada se i roditelji odlikuju visokom otpornošću. Prinos i ostale kvantitativne karakteristike ovakvih hibrida uglavnom ne zadovoljavaju zahteve proizvođača zbog niskog efekta heterozisa koji se dobija u ukrštanju genetički vrlo bliskih roditeljskih komponenata.

Rizomanija - Sve veća rasprostranjenost i štetnost rizomanije u većini zemalja gde se gaji šećerna repa, gde spada i Srbija i Crna Gora, dovela je u pitanje ekonomičnost gajenja ove industrijske biljke. Po svojim karakteristikama, destruktivnosti i promenama kod obolelih biljaka, štetnosti koje izaziva i mogućnosti suzbijanja rizomanija u ovom trenutku predstavlja ekonomski najznačajnije obolenje šećerne repe kod nas i u svetu.

Rizomanija je zapažena pre četrdesetak godina u Italiji kao bolest šećerne repe čiji je prouzrokovatelj bio nepoznat. Canova (1966) i Bongovani (1964) nazivaju ovu bolest rizomanija. Canova je (1966) prvi izneo pretpostavku o vektorskoj ulozi *Polymixa betae* u nastanku rizomanije i mogućoj virusnoj prirodi ove bolesti. Egzaktnim rezultatima istraživanja je ustanovljeno da je rizomanija šećerne repe obolenje koje prouzrokuje virus nekrotičnog žutila nerava repe (VNŽNR) engl. (Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV) a prenosioc virusa je gljiva *Polymixa betae*.

U Srbiji i Crnoj Gori je rizomanija prvi put identifikovana i opisana od strane Šutića i Milovanovića (1978) u Sremu u okolini Sremske Mitrovice.

Mogući načini suzbijanja rizomanije - Istraživanja o mogućnostima i načinima suzbijanja rizomanije odvijala su se u tri osnovna pravca:

1. hemijske mere suzbijanja
2. agrotehničke mere suzbijanja
3. stvaranje otpornih ili tolerantnih genotipova

Pošto hemijske mere suzbijanja rizomanije kao vrlo skupe, nedovoljno pouzdane i neefikasne kao i agrotehničke mere suzbijanja usmerene u pravcu promena ekonomskih i zemljišnih uslova za rast i razmnožavanje parazita i odlaganje vremena infekcije, u dosadašnjim istraživanjima nisu dale zadovoljavajuće rezultate, najekonomičnija i u ovom momentu najprihvatljivija mera borbe je stvaranje otpornih ili tolerantnih genotipova šećerne repe.

Genetička osnova otpornosti prema rizomaniji - U kreiranju pristupa i pravaca u stvaranju otpornosti prema rizomaniji genetičarima i oplemenjivačima stajale su na raspolaganju dve mogućnosti:

- stvaranje genotipova otpornih prema gljivi *Polymixa betae* kao prenosiocu virusa
- stvaranje genotipova otpornih ili tolerantnih na umnažanje virusa u korenu posle ostvarene infekcije

Pošto kod šećerne repe *Beta vulgaris* L. i većine njenih divljih srodnika u momentu pojave rizomanije nisu pronađeni izvori otpornosti prema *Polymixa beae* glavni pravac istraživanja bio je usmeren ka identifikaciji ili stvaranju tolerantnosti ili otpornosti šećerne repe prema inhibiciji umnažanja virusa posle ostvarene infekcije.

Do sada je kod šećerne repe pronadno i opisano nekoliko izvora tolerantnosti prema rizomaniji:

Alba tip

Rizor tip

Holly tip

WB 42

B.maritima

Alba tip tolerantnosti - Odmah nakon identifikacije rizomanije paralelno u Italiji i Japanu, započet je oplemenjivački program na iznalaženju i stvaranju tolerantnih ili otpornih genotipova kod šećerne repe. Tokom nekoliko ciklusa masovne ili individualne selekcije na zemljištu inficiranom rizomanijom, razultiralo je stvaranjem visokotolerantnih multigermskih genotipova prema ovom obolenju, Asher (1993). Selekcioni materijal u kome je ustanovljena tolerantnost prema rizomaniji odlikovao se visokom toleratnošću prema pegavosti lista koju izaziva *Cercospora beticola* Sacc. Alba tipa tolerantnosti koji uključuje vezanost gena tolerantnosti prema rizomaniji sa genima tolerantnosti prema pegavosti lista šećerne repe koju izaziva *Cercospora beticola* Sac, kvantitativna genetička osnova tolerantnosti i intermedijaran način nasleđivanja u F₁ generaciji, ovaj tip tolerantnosti nije obezbeđivao odgovarajući nivo zaštite šećerne repe na zemljištima sa visokim nivoom inokuluma.

Rizor tip tolerantnosti - Drugi tip tolerantnosti koji takođe ima kvantitativnu genetičku osnovu, pošto toleranost kontroliše veći broj minor gena nazvan je Rizor tip po imenu prvog hibrida koji je stvoren koristeći ovaj izvor otpornosti i uveden u proizvodnju 1985. godine (De Biaggi, 1987).

Rizor tip tolerantnosti takođe vodi poreklo iz divljeg srodnika šećerne repe *Beta maritima* L., a geni koji kontrolišu tolerantnost nisu vezani sa genima tolerantnosti prema pegavosti lista koju izaziva *Cercospora beticola* Sacc. ili drugim genima koji kontrolišu ekspresiju kvantitativnih svojstava. Visoka tolerantnost ili u nekim slučajevima u određenim agroekološkim uslovima rezistenstnost temelji se na inhibiciji multiplikacije virusa u korenu šećerne repe.

Holly tip otpornosti - U oglecima Holly Sugar Company 1983. god. u Kaliforniji na zemljištima gde je ustanovljeno prisustvo rizomanije ispitivano je nekoliko stotina hibridnih kombinacija. Samo kod nekoliko hibrida gde je korištena ista muško sterilna monogermna linija kao majčinska komponenta, bez obzira na opravišača, utvrđena je visoka otpornost prema rizomaniji, što je ukazivalo da se otpornost nalazi u sterilnoj monogermnoj komponenti. Prinos korena, sadržaj šećera i prinos šećera kod ovih otpornih hibrida u odnosu na osetljivu kontrolu bio je značajno viši čak za 580% Lewellen (1987).

Rezultati genetičke analize F₁ i F₂ generacije povratnim ukrštanjem sa otpornim i osetljivim genotipovima potvrđuju pretpostavku da je otpornost uslovljena jednim dominantnim genom ili nekoliko dominantnih gena koji su aleli. Gen ili geni otpornosti vode poreklo iz divljeg srodnika šećerne repe *Beta maritima* koja je sakupljena u Danskoj 1950-te godine i korištena u programima ukrštanja sa šećernom repom kao izvor otpornosti prema nematodama i cercospori. Kombinacijom sva tri tipa otpornosti (Alba, Rizor i Holly) stvorena je treća generacija monogermnih hibrida. Ovi hibridi i na zemljištu sa vrlo visokim

nivoom inokuluma daju zadovoljavajuće i ekonomski opravdane prinose korena i sadržaje šećera.

Novi izvori otporosti kod divljih srodnika šećerne repe - Otpornost prema *Polymixa betae* prenosiocu virusa nekrotičnog žutila nerava repe proučavana je u sekciji *Procumbents* i *Patelaris*. Kod gajenih hibrida stvorenih ukrštanjem *B. Vulgaris* sa *B. Procumbents* ili *B. Patelaris* i kod monosomik adicija hromozoma sa *B. Procumbens* u *B. Vulgaris*, infekcija je izvršena sa *Polymixa betae* koja je posedovala virus nekrotičog žutila nerava repe (BNYVV) a efekat otpornosti prema vektoru i virusu je ocenjivan na osnovu koncentracije virusa u biljkama. Kod oko polovine interspecies hibrida posle infekcije je ustanovljena vrlo niska koncentracija virusa dok kod druge polovine hibrida virus nije detektovan. Ovi preliminarni rezultati ukazuju da se otpornosti prema prenosiocu virusa *Polymixa betae* nalaze u sekciji *Procumbens* i *Patelaris*. Rezultati sa monosomik adicijom hromozoma su dokazali da je otpornost na *Polymixa betae* kod *B. Procumbens* locirana na hromozomu 4 i 8 (Paul i sar. 1992).

Bütiner i sar. (1995) su u svojim istraživanjima postavili za cilj izolaciju različitih gena otpornosti iz *B. Maritima*. Od velikog broja testiranih izvora različitih ekotipova, *B. Maritima* ekotipovi iz područja južnih mora bili su visoko osetljivi na virus. U okviru osetljivih populacija sa obale Atlantika kod pojedinačnih biljaka ustanovljena je otpornost na rizomaniju. Na ovaj način stvorena je visoko rezistentna linija *B. Maritima* koja se u ovom momentu koristi kao izvor rezistentnosti prema BNYVV.

Analizirajući visoko otporan ekotip *B. Maritima* prema BNYVV Geylisar (1995) su ustanovili da se otpornost ispoljila i u vrlo ranoj fazi interakcije a virus se umnožavao samo u površinskim ćelijama. Autori su zaključili da se virus vrlo ograničeno širio blizu mesta infekcije a dalja istraživanja su usmerili ka rešavanju mehanizma inhibicije umnožavanja i širenja virusa.

Novo tehnologije u oplemenjivanju šećerne repe

Paralelno sa konvencionalnim oplemenjivanjem neki naučno istraživački centri i oplemenjivačke institucije rade na stvaranju imuniteta prema rizomaniji (BNYVV) koristeći tehnike i metode genetičkog inženjerstva (Le Buanes and Perret, 1986). Cilj novih metoda genetičkog inženjeringa je da se izoluje, a zatim ugradi gen otpornosti ili prema virusu ili prema gljivi.

Mapiranje gena za otpornost prema bolestima poboljšaće efikasnost oplemenjivanja biljaka, a takođe će omogućiti bolje razumevanje molekularnih osnova otpornosti. Neophodno je poznavanje pouzdanih patoloških testova, polimorfnih genetičkih markera, kao i rad sa poznatim genotipom.

Poslednjih godina naučnicima je dostupan veliki broj molekularnih markera. Postoje dva puta stvaranja markera za otpornost prema bolestima, a to su: stvaranje genetičkih mapa i lokalizacija major gena kao i gena za kvantitativna svojstva (QTIL) dok je drugi način detaljna analiza pojedinih delova genoma. Morfološki markeri ukazuju na kvalitativne osobine, molekularni markeri na polimorfizam na nivou DNK ili proteina, a biohemijski markeri predstavljaju proteine nastale delovanjem gena. RLFP markeri nastali su kao posledica varijabilnosti u rasporedu restrikcionih mesta koji prepoznaju restrikcioni

enzimi. PCR markeri se zasnivaju na sposobnosti DNK da se denaturiše pri visokim temperaturama (Lefebre i Chevre, 1995).

Intenzivnim razvojem genetičkog inženjeringa postignuti su značajni rezultati u izolaciji pojedinih gena šećerne repe i saznanjima vezanim za sistem transfera, regulacije i ekspresije gena. Takođe značajan doprinos proučavanju otpornosti na rizomaniju predstavlja otkriće rekombinantnih DNK tehnika čime je omogućeno stvaranje transgenih biljaka šećerne repe. Perret i sar. (1987) su izolovali gen otpornosti iz proteinskog omotača virusa i ugradili ga u binarni vektor pGA492 sa ciljem da dobiju transformacije pomoću *A. Tumefaciens* ili *A. Rhizogenes*.

Proučavanjem otpornosti na viruse kod šećerne repe i izolacijom CP gena proteinskog omotača iz virusa (BNYVV) koji utiče na nekrotično žutilo nerava šećerne repe i samim tim rizomaniju bavio se niz autora (Ehklers i sar., 1991, Kallerholf i sar. 1990, Joersbo i sar. 1990). cDNA za CP gen i njegova 5' terminalna lider sekvenca dobijena je iz BNYVV RNA. Izvršena je konstrukcija binarnog vektora koja sadrži CP gen koji kontroliše 35S promotor iz virusa mozaika karfiola.

U laboratorijskim uslovima Long (1995) je dobio transformisanu biljku šećerne repe. Transgena biljka šećerne repe je otporna na virus (BNYVV) i danas se koristi u istraživanjima paralelno sa poznatim genotipovima koji nose slične fenotipske osobine. Transgena *B. vulgaris* biljka sadrži cDNA sa proteinskog omotača (BNYVV) regulisanog 35S promotorom (CaMV), a transkripcioni terminator region je nopolin sintetaza gen *A. Tumefaciens*-a (Bartsch i sar. 1996).

Mutasa i sar. (1996) su izolovali prajemere poreklom iz gljive *P. Betae*, za specifičnu amplifikaciju pojedinih sekvenci DNK. Uspeh reakcije zavisio je od izbora prajmera, čistoće DNK uzorka i relativne koncentracije spoljnih i unutrašnjih prajmera. Analiza amplifikata izvršena je PCR metodom.

Materijal i metod rada

Produktivnost novosadskih hibridnih sorti šećerne repe tolerantnih prema rizomaniji - Pored niza agroekoloških faktora koji u većoj ili manjoj meri mogu da limitiraju visoku i stabilnu proizvodnju uloga genotipa kao ključnog činioca proizvodnje oduvek je bio a i sada je predmet interesovanja naučne i stručne javnosti.

Kako bi se u što većoj meri iskoristio genetički potencijal određenog genotipa u odgovarajućim agroekološkim uslovima, istraživanja tokom kraćeg vremenskog perioda ne mogu da daju dovoljno pouzdane i tačne rezultate, već je za to potrebno veći broj godina i lokaliteta.

U ovim istraživanjima ispitivano je pet hibridnih sorti šećerne repe tolerantnih prema Rizomaniji (tab.1; 2; 3). Sorte Sara, Lara, Drena, Darija i NS-Hy-031R su od 2000-2004. godine priznate od Komisije za priznavanje sorti Republike Srbije.

Ogledi su izvedeni u četiri reprezentativna lokaliteta Novi Sad, Sombor, Bačka Topola i Zrenjanin tokom tri ispitivane godine (2002, 2003, 2004). Dizajn ogleda je bio slučajni blok sistem. Agrotehnika gajenja je bila uobičajena za gajenje šećerne repe i prilagođena za visoke i stabilne prinose.

Tab.1. Prinos korena (t/ba) u trogodišnjim isptivanjima šećerne repe
 Tab.1. Root yield (t/ba) in sugar beet field variety testing

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations				Prosek Average
		N.Sad	Sombor	B.Topola	Zrenjanin	
Sara	2002	70,5	83,2	74,1	81,6	77,4
	2003	87,6	59,3	63,7	67,8	69,6
	2004	90,9	97,1	60,9	87,1	84,0
	X	83,0	79,9	66,2	78,8	77,0
Lara	2002	86,8	84,4	72,2	88,7	83,0
	2003	60,8	60,0	60,1	66,4	61,8
	2004	85,0	92,8	58,5	91,7	82,0
	X	77,5	79,1	63,6	82,3	75,6
Drena	2002	90,5	89,1	74,7	89,2	85,9
	2003	60,5	54,9	64,4	73,8	63,4
	2004	88,7	84,4	66,5	94,5	83,5
	X	79,9	76,1	68,5	85,8	77,6
Darija	2002	86,2	85,5	73,1	86,1	82,7
	2003	60,8	54,1	63,9	71,6	62,6
	2004	84,3	94,2	67,3	96,1	85,5
	X	77,1	77,9	68,1	84,6	76,9
NS-031R	2002	84,4	82,3	74,4	84,2	81,3
	2003	64,8	65,2	61,8	70,1	65,5
	2004	103,1	108,1	76,2	101,3	97,2**
	X	84,1	85,2	70,8	85,2	81,3
Standard otporan	2002	85,1	80,1	70,9	82,5	79,7
	2003	58,8	61,0	62,3	74,6	64,2
	2004	84,8	84,6	66,2	98,5	83,5
	X	76,2	75,2	66,5	85,2	75,8
Standard osetljiv	2002	70,8	71,8	57,1	76,1	69,0
	2003	50,9	46,0	30,9	63,5	47,8
	2004	65,4	88,2	63,8	90,0	76,9
	X	62,4	68,7	50,6	76,5	64,5

		A*	B**	AB	C***	AC	BC	ABC
LSD	0.05	2.28	1.21	4.44	1.23	4.50	3.35	8.91
	0.01	2.34	2.24	5.54	2.27	6.62	3.43	11.30

cv(%) 9.54

*A sorte/cultivar

**B godine/year

***C lokalitet/locations

Tab.2. Sadržaj šećera (%) u trogodišnjim ispitivanjima šećerne repe
 Tab.2. Sugar content (%) in sugar beet field variety testing

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations					Prosek Average
		N.Sad	Sombor	B.Topola	Zrenjanin		
Sara	2002	13,9	14,2	15,2	14,5	14,5	
	2003	11,3	15,5	14,8	14,9	14,1	
	2004	15,7	15,6	16,2	14,7	15,6	
	X	13,6	15,1	15,4	14,7	14,7	
Lara	2002	14,2	14,5	15,2	14,5	14,6	
	2003	12,3	16,0	15,3	15,4	14,8	
	2004	16,4	15,8	16,7	14,8	15,9*	
	X	14,3	15,4	15,7	14,9	15,1	
Drena	2002	14,1	14,5	15,0	14,3	14,5	
	2003	11,3	15,5	14,9	15,3	14,3	
	2004	15,9	15,6	16,4	14,5	15,6	
	X	13,8	15,2	15,4	14,7	14,8	
Darija	2002	13,5	14,0	14,8	14,9	14,3	
	2003	11,0	14,4	14,5	14,9	13,7	
	2004	15,6	15,4	16,2	14,7	15,5	
	X	13,4	14,6	15,2	14,8	14,5	
NS-031R	2002	12,1	12,1	11,0	11,8	11,8	
	2003	11,8	14,9	14,9	14,6	14,1	
	2004	15,2	15,2	14,9	14,3	14,9	
	X	13,0	14,1	13,6	13,6	13,6	
Standard otporan	2002	13,6	13,8	14,9	13,9	14,1	
	2003	11,3	15,5	14,9	14,6	14,1	
	2004	15,8	15,5	16,2	14,1	15,4	
	X	13,6	14,9	15,3	14,2	14,5	
Standard osetljiv	2002	13,5	14,5	14,3	14,4	14,2	
	2003	9,3	14,2	10,2	14,9	12,2	
	2004	13,4	15,6	15,7	14,0	14,7	
	X	12,1	14,8	13,4	14,4	13,7	

		A*	B**	AB	C***	AC	BC	ABC
LSD	0.05	0.28	0.22	0.44	0.23	0.50	0.35	0.91
	0.01	0.36	0.26	0.56	0.28	0.58	0.43	1.00

cv(%) 5.20

*A sorte/cultivar

**B godine/year

***C lokalitet/locations

Tab.3. Prinos šećera (t/ha) u trogodišnjim ispitivanjima šećerne repe
 Tab.3. Sugar yield (t/ha) in sugar beet field variety testing

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations				
		N.Sad	Sombor	B.Topola	Zrenjanin	Prosek Average
Sara	2002	10,7	10,0	9,7	9,7	10,0
	2003	5,8	8,0	7,4	8,6	7,5
	2004	13,7	13,2	13,1	11,7	12,9
	X	10,1	10,4	10,1	10,0	10,1
Lara	2002	11,0	10,3	9,4	10,5	10,3
	2003	6,3	8,5	7,3	8,9	7,8
	2004	14,6	13,7	13,8	11,7	13,5
	X	10,6	10,8	10,2	10,4	10,5
Drena	2002	11,2	11,0	9,5	10,4	10,5
	2003	5,6	7,4	7,5	9,7	7,6
	2004	14,1	12,9	13,5	11,5	13,0
	X	10,3	10,4	10,2	10,5	10,4
Darija	2002	10,3	10,0	9,2	10,6	10,0
	2003	5,1	7,8	7,0	9,0	7,2
	2004	13,9	13,1	13,5	11,9	13,1
	X	9,8	10,3	9,9	10,5	10,1
NS-031R	2002	10,7	10,1	9,3	9,4	9,9
	2003	6,4	8,5	7,2	8,7	7,7
	2004	13,3	12,6	12,0	11,3	12,3
	X	10,1	10,4	9,5	9,8	10,0
Standard otporan	2002	10,2	9,3	9,0	9,1	9,4
	2003	5,5	8,4	7,4	9,3	7,7
	2004	13,9	13,1	13,6	10,7	12,8
	X	9,9	10,3	10,0	9,7	10,0
Standard osetljiv	2002	8,4	8,7	6,9	8,8	8,2
	2003	9,6	5,5	2,1	7,8	6,3
	2004	11,4	13,2	12,5	10,8	12,0
	X	9,8	9,1	7,2	9,1	8,8

Opis ispitivanih hibridnih sorti:

Sara: Monogermna dioploidna hibridna sorta tolerantna prema Rizomaniji i cercospori. Priznata tokom 2000. godine. Kombinuje dva tipa otpornosti prema Rizomaniji (Holly i Rizer). Pripada grupi normalnih hibridnih sorti (N tip) sa visokim potencijalom za prinos korena i dobrim sadržajem šećera. Tehnološku zrelost dostiže za oko 200 dana vegetacije.

Lara: Priznata od Komisije za priznavanje sorti tokom 2001. godine kao sorta tolerantna prema Rizominiji. Odlikuje se dvostrukom otpornošću prema rizomaniji i tolerantnošću prema pegavosti lista šećerne repe koju izaziva *Cercospora beticola* Sacc. U sušnim uslovima dobro podnosi deficit vlage tolerantna je prema korenovoj vaši. Preporučuje se za rane rokove vađenja jer tehnološku zrelost dostiže za oko 180 dana. Spada u vodeće tolerantne sorte po sadržaju šećera i tehnolškim svojstvima.

Drena: Priznata od Komisije za priznavanje sorti tokom 2002. godine. Preporučuje se za srednje i kasne rokove vađenja što ukazuje da pripada NE tipu sorata. Punu tehnološku zrelost dostiže za 200-210 dana. Kombinuje dva tipa otpornosti prema Rizomaniji (Holly i Rizor) i tolerantna je prema cercospori.

Darija: Hibridna sorta priznata od Komisije za priznavanje sorti 2004. godine koja je otporna prema Rizomaniji i tolerantna prema cercospori. Spada u grupu izrazito prinostnih sorti šećerne repe (E tip). Preporučuje se za kasne rokove vađenja. Visoke i stabilne prinose ostvaruje u punom sklopu od 80-100 hiljada biljaka i vegetacionom periodu od oko 220 dana.

NS Hy 031R: Najnovija hibridna sorta šećerne repe priznata od strane Odeljenja za seme i sadni materijal Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede u 2004. godini. Hibridna sorta šećerne repe NS Hy 031R poseduje dvostruku otpornost prema Rizomaniji i tolerantna prema cercospori. Spada u grupu normalno prinostnih sorti šećerne repe (NE) sa dobro izbalansiranim prinostom korena i sadržajem šećera. Visoke i stabilne prinose ostvaruje u uslovima intenzivne agrotehnike u punom sklopu od 80-100 hiljada biljaka u vegetacionom periodu 200-220 dana.

Rezultati istraživanja

A) Ogledi Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo

Prinos korena: Prinos korena predstavlja osnovni pokazatelj proizvodnosti određene sorte ili hibrida i najvažnija je komponenta prinosa šećera sa jedinice površine. Sve novosadske hibridne sorte u proseku za tri godine ispitivanja i na četiri reprezentativna lokaliteta bile su statistički bolje ili na nivou otpornog standarda (tab.1). I pored određene varijabilnosti u prinosu korena kako po godinama tako i po lokalitetima može se konstatovati da ispitivane hibridne sorte poseduju visoki genetički potencijal rodnosti i dobru adaptabilnost na različite agroekološke uslove gajenja.

Sadržaj šećera: Ako se za prinos korena može reći da je osnovni pokazatelj proizvodne vrednosti određene sorte ili hibrida onda se za sadržaj šećera govori da je jedan od pokazatelja tehnoloških karakteristika. U oplemenjivačkim programima po pravilu je najteže spojiti visok prinos korena i visok sadržaj šećera. Jedino je sorta Lara u proseku za tri godine i četiri lokaliteta imala statistički opravdano viši sadržaj šećera od standarda, dok su ostale hibridne sorte bile na nivou standarda.

Prinos šećera: Prinos šećera kao vrlo kompleksno ali izvedeno svojstvo dobijeno kao proizvod prinosa korena i iskorišćenja šećera najvažniji je pokazatelj genotipa u određenim ekološkim uslovima. Prinos kristalnog šećera u toku tri ispitivane godine kod svih ispitivanih hibridnih sorti bio je viši od 10 t/ha

(tab. 3). I pored toga što razlike između tolerantnog standarda i ispitivanih sorti nisu statistički opravdane visoki prinosi šećera ukazuju na visoki genetički potencijal kako otpornog standarda tako i ispitivanih sorti šećerne repe.

B) Ogleđi Ministarstva poljoprivrede, šumarstva i vodoprivrede odeljenje za seme i sadni materijal

Ovi ogleđi izvedeni su tokom dve godine (2003/04) na pet lokaliteta. Rezultati ogleđa upoređivani su sa standardnom sortom Rama.

Prinos korena: U proseku za dve godine istraživanja i pet lokaliteta hibridna sorta NS Hy 031R imala je visoko značajno viši prinos korena u odnosu na standard (tab.4). U svim ispitivanim lokalitetima u proseku za dve godine ispitivanja hibrid NS Hy 031R imao je viši prinos korena što upravo ukazuje kako na visok genetički potencijal rodnoći tako i na visoku adaptabilnost na različite agroekološke uslove gajenja.

Tab.4. Prinos korena (t/ha)

Tab.4. Root yield (t/ha)

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations					
		Kikinda	Novi Sad	Pančevo	Sremska Mitrovica	Sombor	X
NS-Hy-031R	2003	53.9	84.7	51.2	67.0	77.7	66.9
	2004	70.1	97.4	99.3	75.3	96.5	87.7
	X	62.0	91.1	75.2	71.1	87.1	77.4++
RAMA	2003	54.4	80.2	55.1	56.9	56.1	60.5
	2004	64.0	90.9	94.6	75.8	104.2	85.9
	X	59.2	85.6	74.8	66.3	80.2	73.2

Izvor: Republika Srbija, Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede, Odeljenje za seme i sadni materijal

cv %	7.45
NZR	0.05
	0.01
	3.5
	4.1

Sadržaj šećera: Iako je sadržaj šećera bio nešto viši u odnosu na ispitivani standard (tab.5) u proseku za sve godine ispitivanja i lokalitete ova vrednost nije bila statistički opravdana. Sem na lokalitetu Kikinda na svim ostalim lokalitetima NS Hy 031R imao je nesigifikantno viši sadržaj šećera.

Prinos šećera: U proseku za godine ispitivanja i lokaliteta NS Hy 031R imao je 500 kg/ha šećera više od ispitivanog standarda. Na svim ispitivanim lokalitetima u proseku za dve godine ispitivanja NS Hy 031R imao je viši prinos šećera i on se kreće od 200 kg/ha na lokalitetu Kikinda do 900 kg/ha na lokalitetu Sombor (tab.6).

Tab.5. Sadržaj šećera (%)

Tab.5. Sugar content (%)

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations					
		Kikinda	Novi Sad	Pančevo	Sremska Mitrovica	Sombor	X
NS-Hy-031R	2003	13.7	14.5	16.4	16.4	16.1	15.4
	2004	15.1	14.8	16.4	15.1	16.1	15.5
	X	14.4	14.6	16.4	15.7	16.1	15.4
RAMA	2003	14.5	13.2	16.0	16.0	15.1	15.0
	2004	14.5	15.7	16.0	15.1	16.6	15.6
	X	14.5	14.5	16.0	15.5	15.8	15.3

Izvor: Republika Srbija, Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede, Odeljenje za seme i sadni materijal

cv %	2.23
NZR	0.05
	0.01
	0.3
	0.4

Tab.6. Prinos kristalnog šećera (t/ha)

Tab.6. Yield of crystal sugar (t/ha)

Sorta Variety	Godina Year	Lokaliteti/Locations					
		Kikinda	Novi Sad	Pančevo	Sremska Mitrovica	Sombor	X
NS-Hy-031R	2003	5.8	10.9	7.3	9.6	11.1	9.0
	2004	8.1	12.3	14.4	9.2	13.5	11.5
	X	7.0	11.6	10.9	9.4	12.3	10.2
RAMA	2003	6.5	9.2	7.7	8.0	7.6	7.8
	2004	7.2	12.5	13.3	9.4	15.3	11.5
	X	6.8	10.9	10.5	8.7	11.4	9.7

Izvor: Republika Srbija, Ministarstvo poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede, Odeljenje za seme i sadni materijal

ZAKLJUČAK

Do sada je kod šećerne repe pronađeno i opisano više različitih izvora otpornosti-tolerantnosti prema Rizomaniji i to: Alba, Rizor, Holly, W.B.42 i B. maritima tip. Različiti izvori otpornosti i tolerantnosti imali su u vreme otkrivanja značajan doprinos u stvaranju tolerantnih-otpornih hibridnih sorata šećerne repe. Koristeći i kombinujući sve tipove otpornosti oplemenjivači šećerne repe su stvorili čitav niz vrlo produktivnih tolerantnih i otpornih hibrida. Novija istraživanja ukazuju da je kod divljeg srodnika šećerne repe Beta procumbens pronađena otpornost prema prenosiocu virusa Polymixa betae. I pored vrlo otežanog ukrštanja B. procumbens sa B. vulgaris, koristeći tehnike genetičkog

inženjeringa pretpostavlja se da će se u bliskoj budućnosti stvoriti genotipovi imuni prema Rizomaniji.

U ogledima Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo koji su izvedeni tokom tri godine ispitivanja na četiri lokaliteta po svim ispitivanim karakteristikama novosadske hibridne sorte Sara, Lara, Drena, Darija ili NS Hy 031R su na nivou ili bolje od ispitivanih standarda.

Novostvorena hibridna sorta NS Hy 031R u ogledima Ministarstva poljoprivrede šumarstva i vodoprivrede - odeljenja za seme i sadni materijal izvedenim tokom dve godine na pet lokaliteta po prinosu korena visoko značajno prevazilazi standard, u sadržaju šećera je statistički na nivou standarda a po prinosu šećera prevazilazi standard za 500 kg/ha.

LITERATURA

- Asher, M.J.C. (1993): Rhizomania, In Cooke, D.A., & Scott, R.K. (eds.): The Sugar Beet Crop: Science into Practice. Chapman Hall P. 311-346.
- Bartsch, D., Schmidt, M., Pohl-Ore, M., Haag C. and Schuphan, I. (1996): Competitiveness of transgenic sugar beet resistant to beet necrotic yellow vein virus and potential impact on wild beet populations. *Molecular Ecology*, 5 199-205.
- Btiner, G., Fese, J. und Steinkcken, G. (1995): Selektion von rizomania-resistenzgenen aus wildrben (*Beta vulgaris* L.). 58 *Congers* 19-22 juin IIRB Francais.
- Bongovani, G.C. et Lanzoni, L. (1964): La Rizomania della bietola. *Progresso Agricolo*, 10, 209-221.
- Canova, A. (1966): Si studia La rizomania della bietola. *Inf. Fitopat.* 10, 235-239.
- De Giaggi, M. (1987): Methods de selection - Un cas concret. IIRB winter Congress, Brussels, 50, 157-163.
- Ehlers, U., Commandeur, U., Frank, R., Landsmann, J., Koenig R. and Burgermeister W. (1991): Cloning of the coat protein gene from beet necrotic yellow vein virus and its expression in sugar beet hairy roots. *Theor Appl Genet* 81:777-782
- Geul-L, Heriz-MG, Valentin-P Hehn-A Merdinoglu-D. (1995): Identification and Characterization of Resistance to Rhizomania in an Ecotype of *Beta-Vulgaris* Subsp Maritima. *Plant Pathology*, vol 44, Iss 5, pp 819-828.
- Joersbo, M. i Brunstedt, J. (1990): Inoculation of sugar beet protoplasts with beet necrotic yellow vein virus particles by mild sonication. *Journal of Virological Methods* 29 (1) 63-69.
- Kallerhoff, J., Perez, P., Bouzoubaa, S. Ben Tahar, S. i Perret, J., (1990): Beet necrotic yellow vien virus coat protein-mediated protection in sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) protoplasts. *Plant Cell Reports* 9 (4) 224-228.
- Lefebvre, V., Chevre, AM. (1995): Tools for marking plant disease and pest resistance genes: a review. *Plant breeding*, 15, 3-19.
- Long, E. (1995): Better beet coming. *British sugar beet review*. Vol. 63. No.2, 15-17.
- Le Buaes, S. and Perret, J. (1986): La rizomanie de la bette erave. Importance, diagnostic, methode de Lutte. *Biofutur*, 52, 55-60.

- Lewellen, R.T. (1987): Breeding sugarbeet for resistance to rhizomania: evaluation of host-plant reactions and selection for and inheritance of resistance, 50th winter congress, Bruxelles, Palais des Congres, 11-12 Fevrier, 139-156.
- Milovanović, M. (1995): Toelrantne sorte šećerne repe i druge mere zaštite od rizomanije. 87-104. Rizomanija šećerne repe. D. Šutić edd. Društvo za zaštitu bilja Srbije.
- Mutasa-ES, Chwarszczynska-DM Asher-MJC. (1996): Single-Tube, Nested PCR for the diagnosis of Polymyxa-Betae Infection in Sugar-Beet Roots and Colorimetric Analysis of Amplified Products. Phytopathology, Vol 86, Iss 5, pp 493-497.
- Perret, J., Ben Tahar, Š., Hosemans, D., Geerntes, D., Gorse, A., Kallerhoff, J., Papon, Y., Perez. P. (1982): La rhizomanie: une approche par le gennie genetique. IIRB Institut International de recherches betteravieres. Bruxelles, Palais des Congres, 11-12 fevrier.
- Paul H., Henken B., Bock, T.S.M. de Lange, W. (1992): Resistance to Polymyxa betae in Beta species of the section Procumbentes, in hybrids with B. vulgaris and in monosomic chromosome additions of B. Procumbens in B. vulgaris. Plant Breeding 109 (4) p. 265-273.
- Šutić D. i Milovanović M. (1978): Pojava i značaj kržljivosti korena šećernerepe. Agrohemija 9-10, 363-368.

**POSSIBILITIES OF GENETICS, BREEDING AND GENETIC
ENGINEERING IN CREATION OF RHIZOMANIA RESISTANT SUGAR
BEET GENOTYPES AND PRODUCTIVITY OF NS SUGAR BEET HYBRID
VARIETIES**

Kovačev, L., Čačić, N., Mezei, Snežana, Nagl, Nevena

Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad

SUMMARY

Increased yield of sugar beet depends on hybrids that are grown, agroecological conditions and applied agrotechnic. Last years yield increasing depends only of genotype, in EC is 2% per year and is result of improved yield potential and disease resistance. This is great success for sugar beet genetics and breeding.

Rhizomania is caused by Beet necrotic yellow vein (BNYVV) which transferred by fungus *Polymyxa betae*. Considering the yield reduction and changes in plant growth and development, rhizomania is economically the most important sugar beet disease. In the paper are described all known types of resistance-tolerance: Alba, Rizor and Holly type, and presented results of three year

field trials on four locations. Four hybrid varieties were tested: Sara, Lara, Drena and Darija, accepted by Plant variety commission, Ministry of agriculture and water management, Republic of Serbia and one experimental hybrid. There most important quantitative traits were tested and than compared with standard varieties. It could be observed that varieties did not significantly differ among themselves, which was to be expected since all four them are resistant to rhizomania.

KEY WORDS: sugar beet, genetics, breeding, rhizomania, hybrid varieties