



INSTITUT ZA RATARSTVO I POVRTARSTVO, NOVI SAD

ZBORNIK REFERATA

**52. Savetovanje agronoma i poljoprivrednika Srbije i
1. Savetovanje agronoma Republike Srbije i Republike Srpske**

ZLATIBOR, 21-27. JANUAR 2018.



GODINA DOBROG SEMENA

ZBORNIK REFERATA
52. Savetovanje agronoma i poljoprivrednika Srbije (SAPS) i
1. Savetovanje agronoma Republike Srbije i Republike Srpske
Zlatibor, 21-27.01.2018.

Organizator i izdavač:
Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

Programski odbor:
prof. dr Jan Turan (predsednik)
dr Sanja Vasiljević
dr Radivoje Jevtić
dr Vladimir Miklič
dr Đura Karagić
dr Svetlana Balešević Tubić
dr Milosav Babić
dr Janko Červenski
dr Vladimir Sikora
dr Zorica Nikolić
dr Jovica Vasin
prof. dr Vojislav Trkulja

Organizacioni odbor:
dr Jordana Ninkov
dr Sanja Vasiljević

Glavni urednik:
dr Sanja Vasiljević

Tehnička priprema:
Sonja Đukić
Ivana Knežević

SADRŽAJ

Uvodnik	4
Jan Turan	
NS hibridi suncokreta veoma uspešni u ogledima i proizvodnji, šta sejati u 2018. godini?	5
Igor Balalić, Siniša Jocić, Sandra Cvejić, Milan Jocković, Dragana Miladinović, Nada Hladni, Vladimir Miklić	
Mogućnost primene lecitina iz suncokreta i uljane repice kao emulgatora u proizvodnji mazivog krem proizvoda	14
Ivana Lončarević, Biljana Pajin, Jovana Petrović	
Setvena norma – značajna agrotehnička mera u proizvodnji lucerke.....	18
Snežana Katanski, Đura Karagić, Dragan Milić, Sanja Vasiljević, Vojislav Mihailović, Branko Milošević, Ana Uhlarik	
NS hibridi kukuruza u 2017.	25
Goran Bekavac, Bojan Mitrović, Milosav Babić, Dušan Stanisavljević, Aleksandra Nastasić, Božana Purar, Goran Malidža, Petar Čanak	
Kritični momenti u proizvodnji soje	34
Vojin Đukić, Zlatica Miladinov, Svetlana Balešević-Tubić, Jegor Miladinović, Vuk Đorđević, Dragana Valan, Kristina Petrović	
Tradicionalni i moderni pristup ispitivanju semena.....	45
Dušica Jovičić, Gordana Petrović, Zorica Nikolić, Gordana Tamindžić, Maja Ignjatov, Dragana Milošević, Dragana Marinković	
Novosadske sorte za stabilnu proizvodnju strnih žita	52
Novica Mladenov, Srbslav Denčić, Radivoje Jevtić, Bojan Jocković, Milan Miroslavljević, Vladimir Aćin, Mirjana Lalošević, Ankica Kondić-Špika, Dragana Trkulja, Sanja Mikić, Vesna Župunski, Dragan Živančev, Vojislava Momčilović, Sonja Ilin, Tanja Dražić, Nenad Kovačević, Branko Gajić, Slaviša Štatkic	
Proizvodnja pasulja - značaj, sortiment, načini proizvodnje	59
Mirjana Vasić	
NS primus - nova sorta uljanog lana odličnog tehnološkog kvaliteta zrna	68
Vera Popović, Vladimir Sikora, Livija Maksimović, Ana Marjanović-Jeromela, Biljana Kiprovski, Nemanja Mihailović, Vukašin Raičević	



TRADICIONALNI I MODERNI PRISTUP ISPITIVANJU SEMENA

**Dušica Jovičić, Gordana Petrović, Zorica Nikolić, Gordana Tamindžić,
Maja Ignjatov, Dragana Milošević, Dragana Marinković**

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad
e-mail: dusica.jovicic@ifvcns.ns.ac.rs

Fiziološki pokazatelji

S obzirom na to da seme predstavlja početak biljne proizvodnje, obezbeđivanje kvaliteta semena bi trebalo da bude prioritet savremenog semenarstva i preduslov za visoke prinose svih biljnih vrsta. Pojam „kvalitet semena” predstavlja sveukupnu vrednost semena važnu za poljoprivrednu proizvodnju i čine ga različite karakteristike koje su od interesa za pojedine segmente industrije, pre svega za proizvođače, dorađivače i trgovce.

Sve intenzivnije promene klimatskih uslova u gotovo svim delovima sveta u značajnoj meri povećavaju potrebu za stvaranjem poboljšanih genotipova i tehnologija proizvodnje, kako bi se njihov negativan uticaj sveo na minimum. Drugim rečima, negativni efekti klimatskih promena na semensku industriju mogu se smanjiti poboljšanjem postojećih i razvojem novih efikasnijih sistema koji se odnose na oplemenjivanje, proizvodnju i doradu semena, sertifikaciju, kao i trgovinu.

Što se tiče regulacije međunarodne trgovine semenom, četiri glavna aspekta moraju biti zadovoljena, a to su sertifikacija, ispitivanje kvaliteta semena, fitosanitarne mere i zaštita autorskih prava sorti i hibrida (Cortes, 2009). Pored velike potrebe da se poljoprivredni proizvođači zaštite od neželjenih posledica koje mogu biti uzrokovane upotrebom semena lošeg kvaliteta, za promet semena neophodno je da semenska roba zadovolji određene norme kvaliteta propisane od strane svake države.

Primarni zadatak Laboratorije za ispitivanje semena jeste da pruži brze i pouzdane usluge testiranja i na taj način konstantno podstiče korišćenje visokokvalitetnog semena u poljoprivrednoj proizvodnji. Rezultati ispitivanja jednog uzorka semena trebalo bi da predstavljaju što tačniju ocenu kvaliteta ispitivane partije. Partija je specifična količina semena, koja se fizički može identifikovati i za koju se može izdati sertifikat o ispitivanju. Kako bi ovo bilo zadovoljeno, metode koje se koriste u ispitivanju moraju pre svega biti precizne, nedvosmislene, brze, jeftine i da, u slučaju potrebe, mogu biti proverene. Iako ispitivanje semena po ovim principima predstavlja nužnu osnovu za promet semena, zahtevi proizvodnje se vrlo često razlikuju od rezultata dobijenih u gotovo idealnim laboratorijskim uslovima. Utvrđivanje

kvaliteta semena vrši se primenom standardizovanih metoda, koje se menjaju u skladu sa naučnim saznanjima iz oblasti fiziologije semena. Sertifikat o ispitivanju je pokazatelj kvaliteta semena i obuhvata ispitivanje čistoće, klijavosti i sadržaja vlage, određivanje mase 1000 semena, ispitivanje zdravstvene ispravnosti i utvrđivanje životne sposobnosti semena.

Uzorkovanje semena sprovodi se prema tačno propisanoj proceduri (Sl. list SFRJ, br. 47/87, ISTA, 2017) i smatra se najvažnijim korakom u procesu ispitivanja semena. Ukoliko uzorak nije uzet na adekvatan način, rezultati ostalih analiza neće biti objektivni i pouzdani. Samo ukoliko je uzorak reprezentativan svi testovi sprovedeni na tom uzorku mogu tačno proceniti kvalitet ispitivane partije semena.

S obzirom na to da je voda neophodna za sve fiziološke procese u semenu, sadržaj vlage u semenu se smatra jednim od najvažnijih parametra njegovog kvaliteta. U direktnoj je vezi sa zrelošću semena, optimalnim vremenom za žetvu, mehaničkim oštećenjima, načinom dorade semena, vitalnošću semena kao i stepenom zaraženosti patogenima i insektima. Ispitivanje sadržaja vlage u semenu mora biti prva analiza koja se sprovodi kada seme stigne u laboratoriju, zbog moguće promene vlage u kontaktu semena sa ambijentalnim vazduhom.

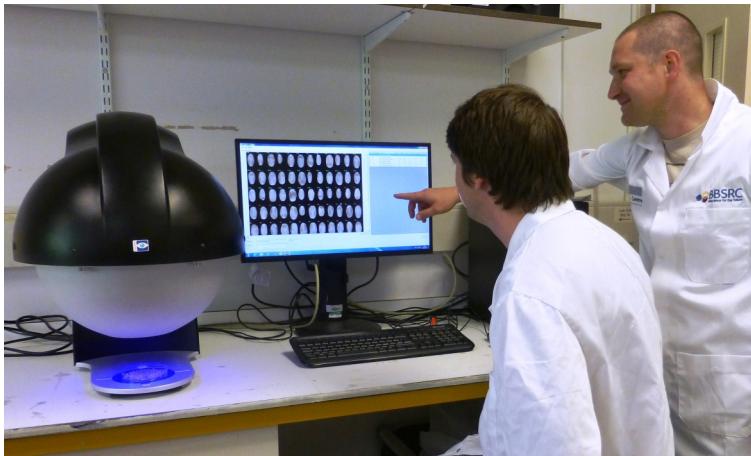
Čistoća semena predstavlja određivanje procentualnog udela pojedinih komponenti u poduzorku semena, izražavajući posebno čisto seme, seme drugih biljnih vrsta i inertne materije. Ova analiza sprovodi se na radnom uzorku, minimalne mase neophodne za određivanje čistoće semena, koja okvirno podrazumeva masu 2500 semena, za svaku biljnu vrstu. Frakcija „čisto seme” se definiše posebno za svaku biljnu vrstu, ali u suštini ova komponenta sadrži celo seme i delove semena koji su veći od polovine prosečnog semena vrste koja je navedena na deklaraciji. „Ostala semena” podrazumevaju semena svih drugih vrsta (gajenih biljaka i korova) koje nisu čisto seme. Frakciju „inertnih materija” čine delovi semena manji od polovine prosečne veličine semena vrste sa deklaracije, kao i sve strukture koje ne pripadaju frakcijama „čisto seme” i „ostala semena” (delovi ploda, semenjače, stabaoca, zemlja, kamenje i slično).

Prisustvo drugih semena podrazumeva brojčano stanje semena svih drugih vrsta koje nisu čisto seme. Koristi se uglavnom radi određivanja broja štetnih, neželjenih vrsta.

Klijavost semena se definiše kao pojava i razvoj ponika do onog nivoa kada izgled



Slika 1. Ispitivanje klijavosti semena u Petri posudama



Slika 2. Videometar, aparat za multispektralno snimanje semena

njegovih esencijalnih struktura ukazuje na njegovu sposobnost formiranja normalne biljke u povoljnim poljskim uslovima (ISTA, 2017). Drugim rečima, test klijavosti je kreiran tako da oceni maksimalan broj semena koji će proizvesti tipične ponike, a istovremeno dati rezultate koji su što je moguće više ponovljivi. Test se sprovodi u optimalnim uslovima vlage, temperature, odgovarajućeg supstrata i svetlosti ako je potrebno (Slika 1).

Dodatne informacije o fiziološkom kvalitetu semena pruža nam ispitivanje životne sposobnosti ili vigor semena. To nije svojstvo koje je moguće pojedinačno izmeriti kao što je moguće klijavost, već je pojam koji opisuje nekoliko osobina povezanih sa sledećim aspektima stanja partije semena (ISTA, 2017): brzina i ujednačenost klijanja semena i porast ponika; sposobnost nicanja semena u nepovoljnim uslovima spoljašnje sredine, kao i stanje semena posle skladištenja, pre svega zadržavanje kapaciteta klijanja. Najčešće korišćeni testovi su test ubrzanog starenja i hladni test.

Kao što je navedeno, brzina, tačnost i troškovi su važni aspekti metoda za ocenjivanje kvaliteta semena. Stoga je od velikog značaja mogućnost uvođenja novih metoda u testiranju semena, koje obezbeđuju ova poboljšanja, istovremeno pružajući dodatne informacije o parametrima kvaliteta semena. Zbog toga se optičke nedestruktivne tehnologije snimanja semena mogu posmatrati kao metode koje bi u budućnosti pružile dodatna saznanja kada se govori o kvalitetu semena, uz obezbeđivanje ponovljivosti analiza unutar iste ili između različitih laboratorija. Trenutno najsavremenija optička metoda zasniva se na multispektralnom snimanju semena. Prilikom ovakvog snimanja, nekoliko slika se snimaju u izabranim opsezima talasnih dužina, pri čemu svaki predstavlja individualnu talasnu dužinu, u zavisnosti od odabranih izvora svetlosti i optičkih filtera (Slika 2). U cilju dobijanja spektromorfoloških informacija za određene parametre kvaliteta semena, potrebno je prethodno izgraditi model baziran na postojećem znanju obučenog osoblja (Olesen et al., 2014).

Genetička ispitivanja

Važan aspekt ispitivanja semena su i genetička ispitivanja koja pre svega podrazumevaju analize prisustva genetičkih modifikovanih organizama (GMO), određivanje genetičke čistoće i identifikaciju hibrida.

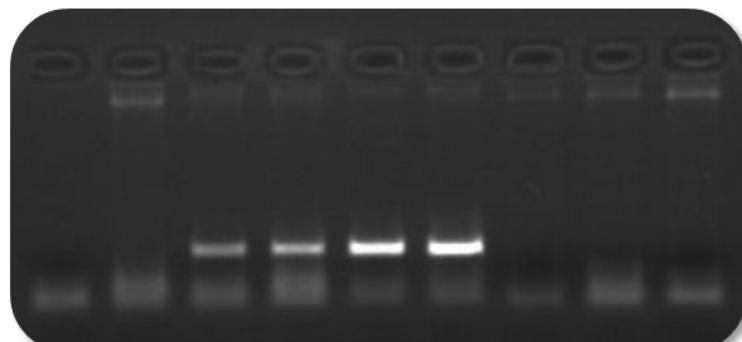
Genetički modifikovani organizmi su organizmi koji sadrže jedan ili više gena, koji se u njih unose veštačkim putem u laboratorijama, metodama genetičkog inženjerstva, pri čemu se geni uzimaju od druge, nesrodne ili čak sasvim udaljene vrste. Uneseni gen je poznat pod nazivom *transgen*, zbog čega se ovakvi organizmi još zovu i *transgeni organizmi*. Genetički modifikovanim organizmima smatraju se oni organizmi kojima je genom izmenjen na način koji se nikada ne bi desio klasičnim razmnožavanjem ili prirodnom rekombinacijom postojećih gena u okviru vrste, odnosno na način koji se nikada ne bi dogodio u prirodi. Kod genetički modifikovanih biljaka, ubačeni gen im daje svojstvo koje genetički nemodifikovani varijetet nema (tolerantnost na herbicide, otpornost na insekte, virusu, gljive ili unapređen sastav nutrijenata) (Nikolić, 2011; Nikolić, 2013).

Genetički modifikovane biljke su postale sastavni deo poljoprivredne proizvodnje i sve je više GM biljnih vrsta koje su komercijalno dostupne (soja, kukuruz, krompir, uljana repica i dr.).

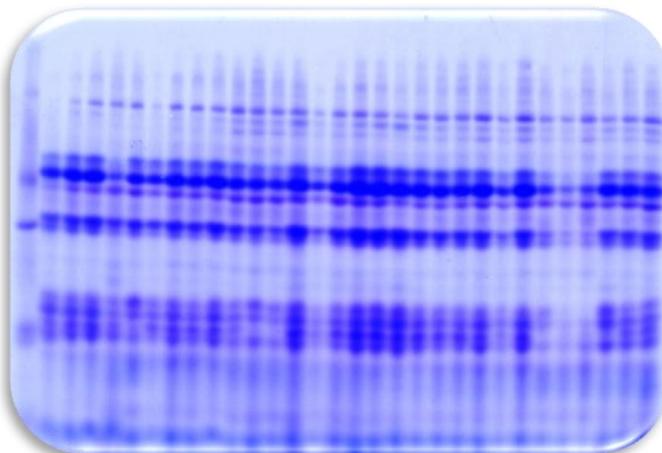
Sa pojavom hrane koja je proizvedena od organizama čija je genetska struktura izmenjena metodama genetičkog inženeringa, javila se i potreba za planiranim i sistematskim praćenjem sirovina i hrane koja potencijalno može da sadrži GMO. Svaka pošiljka semenskog kukuruza, soje, seme šećerne repe, seme uljane repice, merkantilnog kukuruza i soje, sojina sačma, pirinač i ostalo, prilikom

uvoza u našu zemlju, uzorkuje se i ispituje na prisustvo genetičke modifikacije. Neki od tipova modifikacija koji se ispituju određeni su na osnovu odobrenih modifikacija u EU, odnosno koji se nalaze u registru EU, a to su soja i sojina sačma (RoundupReady CP4 protein), kukuruz i proizvodi od kukuruza (MON810, NK603, T25, Bt11 i Bt 176), pirinač i proizvodi od pirinča (LL62), uljana repica i proizvodi od uljane repice (RF3, T45, Bt73) i semenska šećerna repa (H7-1). Fitosanitarna inspekcija, veterinarska inspekcija i druge inspekcijske službe vrše uzorkovanje, a ispitivanja uzetih uzoraka vrše se u akreditovanim i ovlašćenim laboratorijama u zemlji. Laboratorije su odabrane na osnovu konkursa koji je sprovedeo Ministarstvo poljoprivrede, trgovine, šumarstva i vodoprivrede Republike Srbije.

Detekcija, identifikacija i kvantifikacija GMO vrši se primenom lančane reakcije DNK polimeraze (Polymerase Chain Reaction – PCR). Prvi korak u detekciji GMO naziva se "skrining metod" (Slika 3). Njime se detektuju DNK elementi, promotor i terminator, koji su prisutni u većini različitih GMO biljnih vrsta. S obzirom na to da ovi elementi mogu biti prisutni u biljkama u prirodi koje su zaražene virusom mozaika karfiola ili bakterijom *Agrobacterium tumefaciens*,



Slika 3. Agarozna gel elektroforeza PCR produkata uzoraka semena soje pomoću prajmera za 35S promotor.



Slika 4. PAGE elektroforeza rezervnih proteina

realnom vremenu (Real Time PCR). Velika osetljivost i specifičnost su glavne prednosti ovog metoda testiranja uzorka. Prema Zakonu o genetički modifikovanim organizmima (Sl. Glasnik RS, 41/2009) granica dozvoljene kontaminacije u proizvodima iznosi 0,9%. Seme i reproduktivni materijal se ne smatraju genetički modifikovanim ukoliko sadrže do 0,1% primesa genetički modifikovanih organizama. Čim se utvrdi nivo i blizu te granice sledi zabrana prometa.

Fitosanitarni inspektorji redovno kontrolisu useve soje metodom proteinskog testa, odnosno tehnikom test traka za brzu detekciju GM soje. Test trake su najpogodnije za testiranje biljaka na njivi, sirovina ili delimično obrađenih uzorka u kojima proteini nisu denaturisani i ne mogu se koristiti za testiranje termički ili hemijski obrađenih uzorka. Ukoliko test trake pokažu prisustvo GM, inspektorji na licu mesta uzimaju uzorak biljke soje i istog dana šalju u akreditovanu laboratoriju na analizu. Nakon dobijanja rezultata, parcele gde je utvrđeno prisustvo modifikovanih useva mehanički se uništavaju, a protiv odgovornih lica se sprovode zakonom predviđene mere.

U praksi može doći do mešanja GMO sa ne GMO semenom, slučajne kontaminacije semena ili sirovina, stoga je potrebno testirati prisustvo GMO na različitim kritičnim tačkama, od polja preko prerade i proizvodnje do gotovih proizvoda. Dosadašnji rezultati monitoringa ukazuju da je neophodno vršiti kontrolu na široj teritoriji, u cilju očuvanja konvencionalne proizvodnje, kao i sve aktuelnije organske proizvodnje.

Jedna od važnih komponenti kvaliteta semena jeste njegova sortna, odnosno genetička čistoća i predstavlja procenat semena koji pripada ispitivanom genotipu. Genetička čistoća stranooplodnih biljnih vrsta je od posebnog značaja, naročito ako se proizvodnja zasniva na korišćenju hibrida. Održavanje genetičke uniformnosti je jedan od preduslova uspešne proizvodnje i tržišnog plasmana predosnovnog i osnovnog semena. Genetički nečisto seme dovodi do pojave biljaka čije karakteristike nepredvidljivo odstupaju od očekivanih, a prisustvo semena samooplođenih majčinskih i/ili očinskih komponenti u hibridnom semenu, do smanjenja prinosa usled smanjenog broja heterotičnih individua. Zato je kontrola genetičke čistoće semena

povećan je rizik od lažno pozitivnih rezultata testa, što se može izbeći detekcijom ciljnih sekvenci karakterističnih za svaki transgeni organizam. Zbog mogućnosti pojave lažno pozitivnih rezultata, analize rađene u neakreditovanim laboratorijama bi trebalo uzimati sa rezervom.

Ukoliko se utvrdi da postoji genetička modifikacija neophodno je odrediti u kojoj meri je prisutna, što se vrši primenom metode lančane reakcije DNK polimeraze u

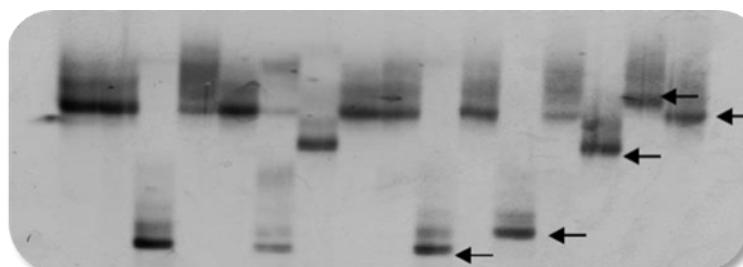
sorti, linija i hibrida od velikog značaja za semenarstvo. Analiza genetičke čistoće je izuzetno važna, posebno pri analizi kvaliteta samooplodnih linija. Uzroci nesortnih primesa mogu poticati od semena nastalog usled nekontrolisane samooplodnje, stranooplodnje ili usled mešanja semena različitih sorti ili hibrida.

Laboratorijska kontrola se zasniva na detekciji polimorfizma proteina ili DNK. Prednost ovih metoda kontrole leži u tome što se na ovaj način seme može ispitati pre naredne setve, u toku ili posle dorade, a moguća je kontrola semenskog useva pre berbe, pa čak i pre sazrevanja (Nikolić i Đorđević, 2014). Kako su tehnike zasnovane na DNK molekularnim markerima relativno nove i znatno skuplje, još uvek su u širokoj upotrebi elektroforetske metode kontrole na osnovu rezervnih proteina i funkcionalnih proteina (Slika 4), odnosno izoenzima (Slika 5) (Nikolić, 2010).

ISTA u novim pravilima iz 2017. navodi primenu molekularnih markera kao alternativu klasičnim metodama određivanja genetičke čistoće semena na osnovu rezervnih proteina i funkcionalnih proteina/ izoenzima.

Molekularni markeri su fragmenti DNK koji predstavljaju deo gena ili nekodirajućeg dela genoma i odlikuju se visokim polimorfizmom. Genetički polimorfizam je prisustvo dva ili više alela u istom lokusu u nekoj populaciji, pri čemu svaki alel ima značajnu frekvenciju. Polimorfizam molekularnih markera zasniva se na varijaciji određenih DNK sekvenci u populaciji.

Molekularni markeri, prvenstveno SSR (Simple Sequence Repeats) markeri, poznati i kao *mikrosateliti*, su regioni repetitivne nekodirajuće DNK sačinjeni od kopija sekvenci dužine 2 do 6 bp. To su visoko varijabilni regioni genomske DNK u kojima je 2-5 nukleotida ponovljeno veći broj puta, a



Slika 6. Polimorfizam genotipova soje sa mikrosatelitskim prajmerom Satt 534

ograničeni su konzervativnim sekvencama. Njihova dužina se razlikuje čak i između bliskih srodnika (Slika 6) i stoga se često koriste pri ispitivanju selekcionog materijala (Nikolić i Đorđević, 2014). Jedinstvenost i značaj SSR markera u ispitivanjima identifikacije hibrida i genetičke srodnosti proizilazi iz njihove multialelne prirode, kodominantnog nasleđivanja, relativno ravnomerne raspoređenosti duž genoma, lake detekcije PCR-om, male količine početne DNK i ponovljivosti u ispitivanjima između laboratorija, što ih čini univerzalnim markerima (Powell i sar., 1996).



Slika 5. PHI izoenzimi hibrida suncokreta



Literatura

- Cortes J (2009): Overview of the regulatory framework in seed trade. U Proceedings of the second world seed conference: Responding to the challenges of a changing world: the role of new plant varieties and high quality seed in agriculture, FAO headquarters, Rome, 8-10 September 2009, p 201.
- ISTA (2017): ISTA Rules. International Seed Testing Association. Zurich, Switzerland.
- Nikolić Z. (2010): Application of genetic markers in seed testing and plant breeding. Ratarstvo i povrtarstvo, 47(2): 409-416.
- Nikolić Z. (2011): Genetički modifikovane biljne vrste – metode za testiranje. U Milošević M, Kobiljski B, Eds, Semenarstvo, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Ed, 2, 1: 337-358, ISBN 978-86-80417-30-1.
- Nikolić Z., Djordjević V. (2014): Primena morfoloških, biohemijских i molekularnih markera u semenarstvu soje. U: Balešević Tubić S, Miladinović J, Eds, Semenarstvo soje, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, 291-340, ISBN 978-86-80417-57-8.
- Nikolić Z. (2013): Monitoring i detekcija GMO. Genetički modifikovani organizmi – činjenice i izazovi, Zbornik radova sa naučnog skupa, Beograd, 22-23. oktobar 2013. Srpska akademija nauka i umetnosti. Odeljenje hemijskih i bioloških nauka, knjiga 6, 121-130. ISBN 978-86-7025-644-6.
- Olesen M. H., Duijn B., Boelt B. (2014): Introduction of new methods: spectral imaging. Seed testing International. ISTA News Bulletin No. 147.
- Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. (1996): The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. Molecular Breeding, 2(3): 225-238. <https://doi.org/10.1007/BF00564200>, ISSN 1380-3743.
- Pravilnik o kvalitetu semena poljoprivrednog bilja, Službeni list SFRJ 47/87
- Zakon o genetički modifikovanim organizmima, Službeni glasnik RS 41/2009