



Univerzitet u Novom Sadu  
Poljoprivredni fakultet



# Genetička divergentnost i kombinacione sposobnosti multigermnih oprašivača šećerne repe

Doktorska disertacija

Mentor: Prof. dr Jan Boćanski

Kandidat: mr Živko Ćurčić

Novi Sad, 2014.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU**  
**POLJOPRIVREDNI FAKULTET**  
**KLJUČNADOKUMENTACIJSKAINFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Živko Ćurčić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	dr Jan Boćanski, redovni profesor
Naslov rada: NR	Genetička divergentnost i kombinacione sposobnosti multigermnih oprašivača šećerne repe
Jezik publikacije: JP	Srpski jezik
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2013
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 9 / stranica 103 / slika 2 / tabela 25 / grafikona 11 / referenci 144)
Naučna oblast: NO	Biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Genetika i oplemenjivanje biljaka
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Genetička divergentnost, šećerna repa, kombinacione sposobnosti, SSR markeri
UDK	575.832:582.661.15(043.3)
Čuva se: ČU	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Važna napomena: VN	nema
Izvod: IZ	<p>Poznavanje genetičke divergentnosti predstavlja osnovni preduslov uspešnog oplemenjivačkog programa. Pored poznavanja genetičke divergentnosti, u proizvodnji hibrida šećerne repe je od izuzetne važnosti i poznavanje kombinacionih sposobnosti oplemenjivačkog materijala. Svako ukrštanje inbred linija nema uvek za posledicu pojavu heterozisa, pa je stoga neophodno ispitati opšte i posebne kombinacione sposobnosti onih linija koje se planiraju koristiti kao roditeljske komponente hibrida. U ovom istraživanju ispitivane su kombinacione sposobnosti multigermnih oprašivača, razvijenih u okviru četiri različita oplemenjivačka programa: programa oplemenjivanja šećerne repe Instituta za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad, i tri programa oplemenjivanja šećerne repe istraživačkih stanica Ministarstva poljoprivrede SAD (Michigan, Salinas i Fort Collins). Oprašivači su se razlikovali u stepenu homozigotnosti u zavisnosti od prisustva gena autofertilnosti, odnosno autosterilnosti. Kao testeri korišćene su dve citoplazmatski sterilne linije Instituta za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad. Pored određivanja genetičke divergentnosti i kombinacionih sposobnosti cilj ovog istraživanja je bio utvrđivanje vrednosti kvantitativnih svojstava za najvažnija svojstva korena: masu korena, sadržaj šećera, sadržaj suve materije, masu glave korena, obim korena, procenat iskorišćenja, prinos kristalnog šećera i na osnovu njih određivanje genetičke divergentnosti ispitivanih oprašivača. Takođe na osnovu dobijenih vrednosti određen je efekat gena i način nasleđivanja za ispitivana kvantitativna svojstva. Oprašivač FC220 se izdvojio kao potencijalno stabilan kombinator u</p>

obe godine istraživanja, beležeći pozitivne vrednosti opštih kombinacionih sposobnosti za sva ispitivana svojstva. Sa druge strane oprašivač EL53 je u obe godine istraživanja beležio negativne vrednosti opštih kombinacionih sposobnosti za sva ispitivana svojstva. U pogledu načina nasleđivanja mase korena, obima korena i prinosa kristalnog šećera superiornost su pokazali autofertilni polinatori u odnosu na populacije slobodne oplodnje. Veći stepen homozigotnosti i uniformnost F1 generacije doveli su do ispoljavanja efekta heterozisa kod hibridnih kombinacija gde su roditelji bili autofertilni polinatori. Na osnovu načina grupisanja multigermlnih oprašivača u zbirnom klasteru, potvrđena je negativna korelacija između mase korena i sadržaja šećera. U okviru jedne grupe su se našli oprašivači sa velikom masom korena i nižim sadržajem šećera, a u drugoj grupi sa malom masom korena i višim sadržajem šećera. Analizom međusobnih odnosa multigermlnih oprašivača šećerne repe pomoću SSR markera konstruisan je dendrogram u kome su oprašivači podeljeni u četiri grupe, shodno centrima porekla iz kojih su dobijeni. Između genetičke udaljenosti određene pomoću podataka dobijenih SSR markerima i posebnih kombinacionih sposobnosti nisu ustanovljene korelacije.

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	10. maj 2013.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	mentor: dr Jan Boćanski, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu  predsednik: dr Miodrag Dimitrijević, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu  član: dr Nevena Nagl, naučni savetnik u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu

University of Novi Sad  
Faculty of Agriculture  
Key word documentation

Accession number:	
ANO	
Identification number:	
INO	
Document type:	Monograph documentation
DT	
Type of record:	Textual printed material
TR	
Contents code:	PhD thesis
CC	
Author:	Živko Ćurčić, MSc
AU	
Mentor:	Jan Boćanski, PhD, Full professor
MN	
Title:	Genetic diversity and combining abilities of multigerm sugar beet pollinators
TI	
Language of text:	Serbian
LT	
Language of abstract:	eng. / srp.
LA	
Country of publication:	Serbia
CP	
Locality of publication:	Vojvodina
LP	
Publication year:	2012
PY	
Publisher:	Author's reprint
PU	
Publication place:	Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
PP	

Physical description: PD	(chapter number 9 / pages 103 / pictures 2 / tables 25/ figures 11 / references 144)
Scientific field SF	Biotechnology
Scientific discipline SD	Genetic and plant breeding
Subject, Key words SKW	Genetic diversity, sugar beet, combining abilities, SSR markers
UC	575.832:582.661.15(043.3)
Holding data: HD	Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Note: N	no
Abstract:  AB	Information about genetic diversity is basic requirement of every successful breeding program. Beside information about genetic diversity for development of sugar beet hybrids it is very important to know combining abilities of breeding material. Since not all crosses result with appearance of heterosis, it is necessary to test general and specific combining abilities of potential parental lines. In this research were used multigerm pollinators from four different breeding programs: sugar beet breeding program of Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, and three programs from different breeding station of the US Department of Agriculture (Michigan, Salinas and Fort Collins). Pollinators differed in the degree of homozygosity, depending on the presence of genes for autofertility or sterility. Testers used in this work were two cytoplasmic sterile lines of the Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad. In addition to determining the genetic diversity and combining ability, objective of this study was to determine values of quantitative traits for sugar beet root traits: root weight, sugar content, dry matter content, root head weight, root circumference, extractable sugar content, crystal sugar yield and from them a genetic diversity of pollinators. Also on the basis of the obtained values it was determined gene effect and mode of inheritance of studied

quantitative traits. Pollinator FC220 segregated as a potentially stable combiner, in both years, having positive values of general combining abilities for all traits. On the other hand pollinator EL53 in both years had negative values of general combining abilities for all traits. In terms of the mode of inheritance for root weight, root circumference and crystal sugar yield self-fertile pollinators showed superiority comparing to the population of open pollination. A higher level of homozygosity and uniformity of the F1 generation resulted in the expression of heterosis in hybrid combinations where the parents were self-fertile pollinators. Multigerm pollinators in aggregate cluster confirmed the negative correlation between root weight and sugar content. In one group were found pollinators with a large root mass and lower sugar content, while in the second group were pollinators with a small root mass and higher sugar content. Cluster analysis of multigerm sugar beet pollinators using SSR markers resulted in construction of dendrogram in which pollinators were divided into four groups, according to the centers of origin from which they were obtained. There was no correlation between genetic distance calculated from the data obtained by SSR markers and specific combining ability.

Accepted on Scientific Board on: AS	May 10 <sup>th</sup> 2013.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>mentor: Jan Boćanski, PhD, full professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad</p> <hr/> <p>president: Miodrag Dimitrijević, PhD, full professor, Faculty of Agriculture, Novi Sad</p> <hr/> <p>member: Nevena Nagl, PhD, principle research fellow, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad</p> <hr/>

## SADRŽAJ

1. Uvod	1
2. Cilj istraživanja	3
3. Pregled literature	4
3.1. Genetička divergentnost	5
3.2. Kombinacione sposobnosti	6
3.3. DNK markeri u oplemenjivanju šećerne repe	8
3.4. Statistička analiza podataka dobijenih SSR markerima	12
3.4.1. Određivanje genetičke varijabilnosti unutar grupa	12
3.4.2. Određivanje genetičke varijabilnosti između grupa	13
3.4.3. Klasifikacioni i ordinacioni metodi	15
4. Radna hipoteza	17
5. Materijal i metod rada	18
5.1. Biljni materijal	18
5.2. Kombinacione sposobnosti i statistička analiza	19
5.3. Izolacija i kvantifikacija genomske DNK	24
5.4. Prajmeri i PCR amplifikacija	25
5.5. Analiza podataka	28
5.6. Vremenski uslovi	29
6. Rezultati istraživanja	31
6.1. Kvantitativna svojstva	31
6.1.1. Masa korena	31
6.1.2. Masa glave korena	35
6.1.3. Obim korena	39
6.1.4. Sadržaj šećera	42
6.1.5. Sadržaj suve materije	46
6.1.6. Iskorišćenje šećera	51
6.1.7. Prinos kristalnog šećera	55
6.1.8. Zbirni klaster	59
6.2. Rezultati analize linija x tester	61

6.2.1. Analiza varijanse	61
6.2.2. Opšte kombinacione sposobnosti	62
6.2.3. Posebne kombinacione sposobnosti	64
6.2.4. Efekat gena i prosečan doprinos linija, testera injihove interakcije za ispitivana svojstva šećerne repe	
66	
6.3. Rezultati analize SSR markerima	68
6.4. Korelacije	77
7. Diskusija	78
7.1. Kvantitativna svojstva	78
7.2. Linija x tester analiza	81
7.3. Molekularne analize	84
7.4. Korelacije	88
8. Zакључак	89
9. Literatura	91
Biografija	

## 1. UVOD

Šećerna repa je najznačajnija industrijska biljka za proizvodnju šećera u umerenom klimatskom području. Šećerna repa je najproduktivnija gajena biljna vrsta u uslovima centralne Evrope (Fischer, 1989). Pored svog velikog značaja u proizvodnji šećera, proizvodnji bioetanola, značaja u ishrani stoke i agrotehničkog značaja, površine pod ovim usevom u Evropi i svetu se smanjuju više od četiri decenije. Smanjenje površina je posledica cenovno niske konkurentnosti sa proizvodima dobijenim od šećerne trske (šećer i bioetanol). Površine pod šećernom repom u svetu u 2010. godini iznosile su 4,67 miliona ha, pri čemu je više od 2/3 površina bilo u Evropi (3,2 miliona ha) (FAO).

Šećerna repa (*Beta vulgaris* L.) je dikotiledna, stranooplodna biljna vrsta koja pripada familiji *Amaranthaceae*. Iako u navedenom rodu postoji jednogodišnje i dvogodišnje vrste, gajena šećerna repa je dvogodišnja biljna vrsta (Lexander, 1985). Dvogodišnja priroda ove biljne vrste je glavna prepreka poboljšanju genotipova šećerne repe oplemenjivanjem, jer period dobijanja semena traje skoro godinu dana i ne može se skratiti. Zbog toga za dobijanje nove hibridne sorte ili linije otporne prema bolesti treba od 10 do 15 godina oplemenjivačkog rada.

Otkriće nemačkog hemičara Margrafa da šećer iz repe ima istasvojstva kao i šećer dobijen iz šećerne trske, sredinom osamnaestog veka, predstavlja početke gajenja šećerne repe u Evropi. Glavni izvor germplazme za rane varijetete je bila stočna repa tzv. „Bela šleska repa“ (Fisher, 1989). Veliki napredak u povećanju šećera nastao je kada je Vilmorin 1850. godine u Francuskoj uveo novu metodu selekcije, test potomstva (progeny test), koji je obuhvatao individualnu analizu korena polarimetrom na sadržaj šećera, proveravajući potomstva u narednim generacijama. Na taj način stvorene su sorte sa sadržajem šećera od 13 do 17%, za koje se smatra da su poslužile kao ishodni materijal za sve do sada stvorene.

Pored sadržaja šećera, najvažnija kvantitativna i kvalitativna svojstva za oplemenjivanje šećerne repe su: prinos korena, otpornost na rizomaniju i

tolerantnost na cerkosporu. Pored ovih svojstava u proizvodnji hibridnih sorata šećerne repe važna su i sledeća svojstva: otpornost na prorastanje, monogermnost (jednokličnost), citoplazmatska muška sterilnost (cms) kao i svojstvo održivača sterilnosti (Hjerdin-Panagopoulos, 2003).

Moderno oplemenjivanje šećerne repe potpuno je usmereno na stvaranje hibridnih sorti, zahvaljujući otkrićima genetske i citoplazmatske muške sterilnosti (Owen, 1945). Selekcija šećerne repe je usmerena na stvaranje inbred linija i korišćenje citoplazmatične-muške sterilnosti u stvaranju hibrida F<sub>1</sub> generacije i na iskorišćavanje efekta heterozisa, koji prvenstveno rezultira u povećanju prinosa korena.

Šećerna repa je stranooplodna biljna vrsta, koja nije podložna samooplodnji (Bosemark, 1993). Glavni razlog za to je prisustvo gena autosterilnosti, koji svojim sistemom inkompatibilnosti onemogućavaju samooplodnju. Sa pronalaskom i opisom sistema autosterilnosti, pronađena je i opisana autofertilnost kod šećerne repe (Owen, 1942). Ova istraživanja ukazuju da je autofertilnost kontrolisana jednim dominantnim genom S<sup>f</sup>. Prisustvo gena autofertilnosti u oplemenjivačkom materijalu omogućuje efikasnu samooplodnju i proizvodnju inbred linija.

U zavisnosti od prisustva gena autosterilnosti ili autofertilnosti oprašivači šećerne repe mogu da budu podeljeni u dve grupe: populacije slobodne oplodnje i inbred linije. Genetička divergentnost unutar prve grupe i između ovih grupa izuzetno varira, a njeno poznавanje je osnovni preduslov uspešnog oplemenjivačkog programa. Intenziviranjem poljoprivredne proizvodnje i oplemenjivanjem usmerenim na maksimalnu produktivnost zadovoljavajućeg kvaliteta i uniformnosti proizvoda, došlo je do smanjenja genetičke divergentnosti (Lee, 1995). Genetička divergentnost može da se odredi analizom rodoslova, analizom morfoloških, fizioloških ili citoloških markera, kao i biometrijskom analizom kvantitativnih i kvalitativnih svojstava (Lee, 1995; Melchinger, 1999). Za ocenu genetičke divergentnosti molekularni markeri su generalno superiorniji u odnosu na morfološke, pedigree i biohemijske podatke, zbog svoje brojnosti i činjenice da se koriste nezavisno od stepena razvoja biljke (Melchinger *et al.*, 1991; Melchinger, 1993). Razvijeno je nekoliko marker sistema i svaki od njih ima svoje prednosti i nedostatke. Mikrosateliti (SSR markeri) predstavljaju kodominantne markere, pouzdane, koji se koriste u brojnim istraživanjima genetičke različitosti raznih biljnih vrsta.

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Kvantitativna svojstva predstavljaju osnovni kriterijum prilikom izbora genotipova za izvođenje ukrštanja i dobijanja nove genetičke varijabilnosti u klasičnom oplemenjivanju. Cilj ovog istraživanja je bio utvrđivanje vrednosti kvantitativnih svojstava zanajvažnija svojstva korena: masu korena, sadržaj šećera, sadržaj suve materije, masu glave korena, obim korena, procenat iskorišćenja i prinos kristalnog šećerai na osnovu njih određivanje genetičke divergentnosti ispitivanih opašivača. Takođe na osnovu dobijenih vrednosti odrediće se efekat gena i način nasleđivanja za ispitivana kvantitativna svojstva.

Razvojem DNK markera omogućena je procena genetičke divergentnosti nezavisno od faze razvoja biljke i uslova spoljašnje sredine.U ovom radu cilj je bio određivanje genetičke divergentnosti ispitivanih genotipova pomoću SSR markera kao i utvrđivanje njihove srodnosti i udaljenosti klaster analizom i korespondentnom analizom.

Pored poznavanja genetičke divergentnosti i vrednosti kvantitativnih svojstava, u proizvodnji hibrida šećerne repe je od izuzetne važnosti i poznavanje kombinacionih sposobnosti oplemenjivačkog materijala. Svako ukrštanje inbred linija ne rezultuje pojmom heterozisa, zato je neophodno ispitati opšte i posebne kombinacione sposobnosti roditelja.

Povezivanje klasičnih metoda oplemenjivanja i tehnologija zasnovanih na DNK markerima je jedan od glavnih ciljeva savremenih oplemenjivačkih programa. Stoga je jedan od ciljeva rada bio dovođenje u vezu vrednosti kombinacionih sposobnosti ispitivanih genotipova sa njihovom genetičkom udaljenošću procenjenom pomoću SSR markera.

### **3. PREGLED LITERATURE**

Dvogodišnja priroda šećerne repe predstavlja jedan od najvećih problema brzom i efikasnom stvaranju poboljšanih genotipova oplemenjivanjem. U prvoj godini šećerna repa proizvodi zadebljali koren, dok u drugoj cveta i stvara seme. Da bi šećerna repa cvetala u drugoj godini, neophodno je da prođe kroz fazu jarovizacije, odnosno specifičan temperaturni i svetlosni režim. Nakon tog perioda biljke produkuju hormon vernalin, koji ubrzava cvetanje. Jarovizacija traje od 12-16 nedelja, nakon toga biljka proizvodi cvetonosno stablo, koje nakon šest do deset nedelja od završetka jarovizacije počinje da formira prve cvetove. U komercijalnoj proizvodnji semena, od žetve do žetve prođe oko 11 meseci. Taj period može biti skraćen na 9 meseci jarovizacijom sadnica starih šest nedelja (McGrath, 2010).

Pored dvogodišnje prirode, jednoodsojstava koje dodatno otežava oplemenjivanje šećerne repe je činjenica da nije podložna samooplodnji. Ovosvojstvo je rezultat prisustva gena autosterilnosti. Postoji nekoliko lokusa odgovornih za autosterilnost koji sprečavaju oplodnju u slučaju da je alel jednog od ovih lokusa identičan kod oba gameta (Larsen, 1977). Pod uticajem uslova spoljašnje sredine, kao što je temperatura, pri niskim temperaturama (oko 15°C) i veoma visokim (oko 35°C) autosterilne biljke mogu da zametnu izvesnu količinu semena (Bosemark, 1993).

Pored sistema autosterilnosti, pronađena je i opisana autofertilnost kod šećerne repe. Autofertilnost je kontrolisana jednim dominantnim genom *S<sup>f</sup>* i sastavni je deo svih modernih oplemenjivačkih programa. Biljke koje poseduju dominantni alel ovog gena proizvode 90-95% samooplodnog semena čak i u prisustvu velike količine polena drugih genotipova (Bosemark, 1993). Prisustvo gena autofertilnosti u oplemenjivačkom materijalu zajedno sa nuklearnom muškom sterilnošću omogućuje efikasnu samooplodnju i proizvodnju inbred linija, istovremeno dozvoljavajući i dalje slobodnu oplodnju (Owen, 1954; Bosemark, 1971).

### **3.1. Genetička divergentnost**

U zavisnosti od prisustva gena autosterilnosti ili autofertilnosti, oprašivači šećerne repe mogu da se podele u dve grupe: populacije slobodne oplodnje i inbred linije. Genetička divergentnost unutar prve grupe i između ovih grupa može biti velika. Genetička različitost je osnovni preduslov uspešnog oplemenjivačkog programa na svim biljnim kulturama (Ober and Luterbacher, 2002). Moderni pravci oplemenjivanja, kao i promena načina poljoprivredne proizvodnje, koja je dizana na nivo industrijske, doveli su do smanjenja genetičke različitosti, zbog naglaska na maksimalnu produktivnost, prihvatljiv kvalitet i uniformnost proizvoda (Lee, 1995). Procena genetičke divergentnosti je od izuzetnog značaja za efikasnu organizaciju oplemenjivačkog materijala, kao i za sagledavanje mogućnosti i načina korišćenja genetičkih resursa za proširenje genetičke varijabilnosti u programima oplemenjivanja, a time i u proizvodnji (Cao *et al.*, 1998; Soleimani *et al.*, 2002). Genetička divergentnost može da se odredi pedigree analizom, analizom morfoloških, fizioloških ili citoloških markera, kao i biometrijskom analizom kvantitativnih i kvalitativnih svojstava (Lee, 1995; Melchinger, 1999). Nedostatak ovih metoda je nemogućnost detektovanja razlika između blisko povezanih genotipova, kao i između elitnih germplazmi (Bernardo, 1992; Smith and Smith, 1989). Pored toga, kvantitativna svojstva su pod velikim uticajem faktora spoljašnje sredine (Bernardo, 1992). Razvojem DNK markera stvoren je potpuno novi alat za određivanje genetičke divergentnosti, koji je nezavisan od faze razvoja biljke i uslova spoljašnje sredine. DNK markeri odražavaju stvaran nivo genetičke divergentnosti između postojećih genotipova na DNK nivou i u isto vreme daju preciznije procene različitosti nego fenotipske i pedigree informacije (Smith and Smith, 1992; Westmann and Kresovich, 1997).

S obzirom da je šećerna repa relativno mlada gajena biljna vrsta, koja je počela da se koristi za proizvodnju šećera pre 250 godina i da je glavni izvor germplazme bila tzv. „Bela šleska repa“, smatra se da je genetička osnova šećerne repe uža od većine stranooplodnih gajenih biljaka (Fischer, 1989; Bosemark, 1989). Radi proširenja genetičke osnove, u oplemenjivanju šećerne repe, postoje brojni primeri korišćenja divljih srodnika, prvenstveno vrste *Beta*

*maritima*, najčešće kao izvora otpornosti prema raznim bolestima i štetočinama (Panella and Lewellen, 2007).

Glavni cilj oplemenjivanja šećerne repe je da se stvore sorte, koje bi imale visok prinos korena, odgovarajućeg kvaliteta, tolerantne prema najznačajnijim bolestima. Zbog toga je za dalji napredak i efikasnost oplemenjivanja šećerne repe neophodno da oplemenjivači raspolažu početnim materijalom koji bi se odlikovao širokom genetičkom varijabilnošću (Kovačev, 1985).

### **3.2. Kombinacione sposobnosti**

Pored poznavanja genetičke divergentnosti i fenotipske varijabilnosti u proizvodnji hibrida šećerne repe potrebno je i poznavanje kombinacionih sposobnosti roditeljskih genotipova u programima oplemenjivanja. Svako ukrštanje inbred linija ne rezultuje pojmom heterozisa, zato je neophodno ispitivanje opštih i posebnih kombinacionih sposobnosti roditelja. Opšta kombinaciona sposobnost (OKS) predstavlja prosečnu vrednost jednog roditelja u ukrštanju sa drugim roditeljima. Posebna kombinaciona sposobnost (PKS) je ponašanje roditelja X u ukrštanju sa roditeljem Y (Borojević, 1981).

Informacije o kombinacionim sposobnostima genotipova šećerne repe su neophodne za razvoj uspešnog programa oplemenjivanja. Efekti OKS i PKS su važan pokazatelj potencijalne vrednosti inbred linija u hibridnim kombinacijama (Sprague and Tatum, 1942). Kombinaciona sposobnost inbred linije je najvažniji faktor koji određuje njenje dalje korišćenje u stvaranju hibrida (Hallauer and Miranda, 1988). Prema konceptu kombinacionih sposobnosti, genetička varijansa je podeljena u dve komponente, odnosno dva izvora varijacije: varijansa koja pripada OKS i varijansa koja pripada PKS (Hallauer and Miranda, 1988; Sughroue and Hallauer, 1997). Efekat OKS je prepoznat kao mera aditivnog delovanja gena, a efekat PKS kao procena neaditivnog delovanja gena, kao što su dominantno i epistatično delovanje (Sprague and Tatum, 1942; Rojas and Sprague, 1952; Kambal and Webster, 1965). Odnos aditivnog i neaditivnog efekta gena u dialelnim ukrštanjima je pokazatelj načina delovanja gena (Baker, 1978).

Za određivanje kombinacionih sposobnosti inbred linija primenjuju se različiti metodi od kojih su metod dialelnih ukrštanja, *topcross* i *polycross* metod najvažniji (Marinković i sar. 2003).

Dialelnim ukrštanjem ispitivanog materijala dobijaju se informacije o OKS, PKS, načinu nasleđivanja, frekvenciji dominantnih i recessivnih gena i heritabilnosti (deo genotipske u fenotipskoj varijansi) ispitivanih svojstava. Međutim, ovaj metod zahteva mnogo rada i skup je, pa se u toku selekcionog rada koriste druge, manje obimne metode za dobijanje informacija o OKS na bazi kojih se vrši izbor materijala za dalja ispitivanja.

*Polycross* metod predstavlja varijantu selekcije u polusrodstvu i pogodan je za ispitivanje OKS kod stranooplodnih vrsta, koje se osim generativnim mogu razmnožavati i vegetativnim putem. Ovaj metod se sastoji u tome da se sve linije zaseju u slučajnom rasporedu. S obzirom da se radi o stranooplodnim biljkama, postoji verovatnoća da će svaka biljka biti oplođena svakom linijom. S obzirom da se ne zna koja linija je učestvovala kao otac, razlike koje nastaju između linija u prinosu ili drugim svojstvima pripisuju se vrednosti same te linije i na osnovu toga zaključuje o OKS i PKS ispitivanih linija (Borojević i Borojević, 1976; Schoen and Cheliak, 1987).

*Topcross* metod predstavlja varijantu progeny testa (procena genotipa roditelja analiziranjem svojstava potomstva). Predložio ga je Davis (1927) za ocenu kombinacionih sposobnosti inbred linija u programima oplemenjivanja kukuruza. Metod se zasniva na korišćenju jednog zajedničkog testera i pogodan je za ispitivanje kombinacionih sposobnosti većeg broja inbred linija, jer je pri njegovom korišćenju obim rada mnogo manji u poređenju sa dialelnim ukrštanjem. Mišljenje autora je da samo jedan tester nije dovoljan za pouzdano utvrđivanje kombinacionih sposobnosti, što su potvrdili Dolotij *et al.* (1984). Ovi autori su, ispitujući OKS 13 linija šećerne repe u test ukrštanjima sa 5 testera, utvrdili da se na bazi testa sa jednim testerom može vršiti samo negativna selekcija na OKS. Kod primene ovog metoda, pored broja testera, važan je i njihov odabir. Anaščenko *et al.* (1975) proučavajući 18 testera suncokreta, među kojima je bilo sorti, hibrida, inbred linija i genotipova različitog stepena inbreedinga iz genetičke kolekcije, su zaključili da korišćenje linija kao testera nije dovoljno efikasno za ostvarivanje praktičnog cilja, a u prvim etapama rada je i neracionalno. Prema

autorima za sigurnu ocenu materijala genotip testera mora biti šire genetičke osnove, a to bi ujedno uticalo na smanjenje broja testera. Walejko and Russel (1977) i Zambezi *et al.* (1986), ispitujući OKS kukuruza, utvrdili su da inbred linije kao testeri mogu efikasno da posluže u selekciji na OKS.

Prinos korena i sadržaj šećera su najvažnija svojstva za proizvođače šećerne repe, kao i prerađivače i zbog toga su najčešće ispitivana od strane oplemenjivača šećerne repe. Kako navodi McGrath(2005), između ova dvasvojstva postoji negativna korelacija, koja otežava istovremenu selekciju na visok prinos korena i visok sadržaj šećera.

Helmerick *et al.* (1963) su, ispitujući kombinacione sposobnosti za prinos korena i sadržaj šećera kod šećerne repe, utvrdili da su OKS rezultat aditivne genetičke varijanse, a PKS rezultat neaditivne genetičke varijanse. U istom istraživanju su konstatovali da je aditivni efekat gena značajniji od neaditivnog i za prinos korena i za sadržaj šećera. Hecker (1967), MacLachlan (1972) i Smith *et al.* (1973) utvrdili su veći uticaj neaditivnog efekta gena na prinos korena, a veći uticaj aditivnog efekta gena na sadržaj šećera i ostala svojstva povezana sa kvalitetom korena. U saglasnosti sa ovim tvrdnjama su i istraživanja Kovačeva (1985) i Čačića (1991). Prema Stančiću i sar. (1997) neaditivna komponenta genotipske varijacije imala je veći uticaj od aditivne i na prinos korena i na sadržaj šećera. Takođe veći uticaj neaditivnih gena na prinos korena utvrdili su Čačić i sar. (1999) i Ćurčić (2008). U istraživanju koje su izveli Ahmadi and Assad (1998) aditivna varijansa je obuhvatala 54% varijabilnosti za prinos korena i 75% za sadržaj šećera. Informacije o delovanju gena su značajne zbog izbora metoda selekcije. Takođe, veći značaj neaditivnog efekta gena ukazuje na mogućnost pojave heterozisa kod tih svojstava.

### **3.3. DNK markeri u oplemenjivanju šećerne repe**

Imajući u vidu dvogodišnju prirodu šećerne repe, autosterilnost, ispitivanje kombinacionih sposobnosti inbred linija i prevođenje istih u citoplazmatično sterilnu formu, kao i unošenje gena otpornosti prema bolestima iz divljih srodnika, za stvaranje nove hibridne sorte ili linije šećerne repe otporne prema bolesti treba

8-15 godina oplemenjivačkog rada (Panella and Lewellen, 2007). Razvojem novih tehnologija, kao što su genetički inženjerинг i DNK markeri, omogućeno je bolje iskorišćenje genetičkih resursa i unapređenje metoda selekcije. Rezultat toga su brže stvaranje linija poželjnih svojstava, prvenstveno otpornih prema specifičnim bolestima i ubrzano stvaranje novih hibrida i sorata, i/ili sorata sa većom produktivnošću u određenim sredinama i sorata sa novim svojstvima (Brennan and Martin, 2007).

DNK markeri otkrivaju genetičku varijabilnost DNK sekvenci. Njihove glavne prednosti su:

- 1) mnogobrojniji su u odnosu na morfološke markere zbog čega daju bolju sliku celokupnog genoma,
- 2) mogu da se primene nezavisno od stadijuma razvoja organizma i proučavane vrste tkiva.

Prema, Agarwal *et al.* (2008), DNK markeri zasnovanina**PCR** (**Polymerase Chain Reaction**) analizi mogu se podeliti u dve kategorije:

- Markeri zasnovani na umnožavanju nespecifičnih DNK sekvenci, od kojih su u oplemenjivanju biljaka najčešće primenjivani **RAPD** (**Random Amplified Polymorphic DNA**) i **AFLP** (**Amplified Fragment Length Polymorphism**),
- Markeri zasnovani na umnožavanju specifičnih DNK sekvenci, kao što su **SSR** (**Simple Sequence Repeats**), **CAPS** (**Cleaved Amplified Polymorphic Sequences**) i **SNPs** (**Single Nucleotide Polymorphism**).

Prema načinu nasleđivanja DNK markere možemo podeliti na dominantne, koji detektuju samo jedan alel (RAPD, AFLP), i kodominantne, koji detektuju dva ili više alela (SSR, CAPS). Detekcijom dva alela moguće je razlikovati homozigote od heterozigota, dok detekcijom jednog alela to nije moguće. DNK markeri se takođe razlikuju po broju lokusa čiji se polimorfizam istovremeno detektuje. RAPD i AFLP detektuju višestruke lokuse, SSR markeri detektuju jedan do pet lokusa, dok CAPS markeri detektuju pojedinačne lokuse.

Izbor markera koji se primenjuju u određenom istraživanju zavisi od velikog broja činilaca. Prvi činilac je postavka samog eksperimenta. U eksperimentima

sapovratnim ukrštanjima gde se očekuju samo dve klase genotipa, jedna homozigotna recesivna i jedna heterozigotna klasa, dominantni markeri bi pokazali iste rezultate kao i kodominantni. U istraživanjima gde se materijal razdvaja na više od dve genotipske klase, prednost imaju kodominantni markeri. Prilikom izbora treba obratiti pažnju na pouzdanost različitih DNK markera. Pouzdanost većine marker sistema je visoka, sa izuzetkom RAPD markera, koja je povezana sa povećanim rizikom genotipskih grešaka, zbog pojave nazvane „kompeticija“, odnosno konkurenциje između različitih DNK fragmenata za umnožavanjem (Heun and Helentjaris, 1993; Halldén *et al.*, 1996; Hansen *et al.*, 1998).

Mikrosateliti (SSR) su kratke sekvene od dva do osam nukleotida koje su ponovljene veći broj puta (Weber, 1990). Tako, primera radi, sekvene (AC)n ili (CCG)n mogu da se nađu u svim delovima genoma eukariota. Prema Schug *et al.* (1998), to su visoko varijabilni regioni DNK. Nasleđivanje ovih markera je kodominantno, visoko su ponovljivi i pouzdani (Matsouka *et al.*, 2002). Lako se prenose iz jedne mape gena u drugu (Laurent *et al.*, 2007). Zbog visokog polimorfizma i efikasnosti koriste se za genetičko mapiranje kao i za analize rodoslova i genomske otiske. Njihova dužina se razlikuje čak i između bliskih srodnika, pa se zbog toga često koriste pri ispitivanju selekcionog materijala (Yu *et al.*, 2000). Relativno jednostavna tehnika rada, slučajna distribucija u genomu i visok nivo polimorfizma, omogućili su upotrebu ovih markera u različitim istraživanjima. Osnovni nedostatak u poređenju sa ostalim DNK markerima je razvoj mikrosatelita iz DNK biblioteka, jer ga karakterišu slabi rezultati i zahteva puno rada (Zane *et al.*, 2002).

Zbog značaja koji šećerna repa ima u proizvodnji šećera, DNK markeri u službi oplemenjivanja ove kulture se intenzivno razvijaju. Ipak, relativno mali broj podataka u vezi sa ovim markerima i mapama gena na šećernoj repi je javno dostupan. Dodatan problem predstavlja i činjenica da se ove mape oslanjaju na slabo ponovljive i neprenosive markere kao RAPD (Uphoff and Wricke, 1995; Barzen *et al.*, 1995) i AFLP markere (Schondelmaier *et al.*, 1996; McGrath *et al.*, 2007). Sa druge strane pojedine mape se oslanjaju na anonimne markere, mikrosatelite (Rae *et al.*, 2000). Uprkos tome, AFLP i RAPD markeri omogućili su lociranje važnih svojstava 9 hromozoma šećerne repe (tab. 1).

Tabela 1. Lokacije svojstavana hromozomima šećerne repe

Svojstvo	Oznaka gena	Hromozom	Literaturni izvor
Nuklearna muška sterilnost	A, a	1	Friesen <i>et al.</i> , 2006
Otpornost prema virusu mozaika šećerne repe	Bm, bm	1	Friesen <i>et al.</i> , 2006
Jednogodišnjost	B, b	2	Boudry <i>et al.</i> , 1994; El-Mezawy <i>et al.</i> , 2002
Boja hipokotila	R, r	2	Barzen <i>et al.</i> , 1992
Otpornost prema rizomaniji	Rz, rz	3	Barzen <i>et al.</i> , 1997; Scholten <i>et al.</i> , 1997
X restorer lokus za cms	X, x	3	Hagihara <i>et al.</i> , 2005
Monogermnost	mm	4	Barzen <i>et al.</i> , 1992
Z restorer lokus za cms	Z, z	4	Roundy and Theurer, 1974

SSR markeri su mnogostruko korišćeni za analize populacione genetike, kao što su frekvencija alela, Hardy-Weinbergovog zakona ravnoteže i genetičke divergentnosti kod repa (Arnaud *et al.*, 2003; Viard *et al.*, 2004; Andersen *et al.*, 2005). Ipak većina istraživanja se bavila prenošenjem gena, filogenetičkim vezama između šećerne repe i njenih divljih srodnika, kao i genetičkom divergentnošću i populacionom strukturu divljih srodnika repe (Bartsch *et al.*, 1999; Cureton *et al.*, 2002; Viard *et al.*, 2002; Fénart *et al.*, 2008; Arnaud *et al.*, 2009). Ispitivanjem genetičke divergentnosti između velikog broja genotipova šećerne repe uz pomoć SSR i SRAP markera bavili su se Wang *et al.* (2008), Li *et al.* (2010), Wang *et al.* (2011). Mikrosatelitski markeri predstavljaju moćan alat za procenu genetičke divergentnosti i ocenu strukture populacije šećerne repe (Richards *et al.*, 2004).

Poređenja genetičke divergentnosti sa učinkom hibrida i heterozisom su detaljno proučavana kod hibrida kukuruza, gde je utvrđena pozitivna korelacija između genetičke divergentnosti roditelja bazirane na morfološkim markerima i heterozisom (Moll *et al.*, 1965). Glavni nedostatak morfoloških markera, pored toga što su pod velikim uticajem faktora spoljašnje sredine, ogleda se u nemogućnosti detektovanja razlika između blisko povezanih genotipova (Smith and Smith, 1992). Grupisanje sličnih germplazmi se radi na osnovu genetičke udaljenosti utvrđene DNK markerima, što predstavlja prvi korak u identifikovanju

perspektivnih heterotičnih parova (Melchinger, 1999). Pojedina istraživanja su pokazala visoku korelaciju između genetičke udaljenosti i hibridnih karakteristika kukuruza (Betran *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2004; Kiula *et al.*, 2008). Nasuprot ovim istraživanjima, tvrdnje drugih naučnika su da se vrednosti genetičke udaljenosti mogu samo ograničeno koristiti u predviđanju hibridnih performansi, heterozisa i PKS pojedinih ukrštanja (Ajmone-Marsan *et al.*, 1998; Parentoni *et al.*, 2001; Legesse *et al.*, 2008). Drinić *et al.* (2002) tvrde da mikrosatelitski markeri obezbeđuju efikasan metod za procenu hibridnih vrednosti i heterozisa. Generalno, procene genetičke udaljenosti su mnogo efikasnije za predviđanje hibridnih performansi između blisko povezanih inbred linija, nego u ukrštanjima udaljenih inbred linija (Melchinger, 1999).

### **3.4. Statistička analiza podataka dobijenih SSR markerima**

SSR markeri u okviru ovog istraživanja su korišćeni za: 1) procenu genetičke varijabilnosti unutar odabranih populacija, i 2) procenu genetičke srodnosti i udaljenosti između ispitivanih populacija.

#### **3.4.1. Određivanje genetičke varijabilnosti unutar grupa**

Pokazatelji koji se koriste za određivanje genetičke varijabilnosti unutar grupe i kod dominantnih i kodominantnih markera su sledeći: a) procenat polimorfnih lokusa, b) indeks polimorfizma (PIC, polymorphism information content) (Botstein *et al.*, 1980; Roldán-Ruiz *et al.*, 2000), c) heterozigotnost/divergentnost gena (Nei, 1973), d) Shannon-ov indeks (Shannon and Weaver, 1949) i drugi pokazatelji koji se koriste prilikom primene kodominantnih markera.

Lokusi za koje se vezuju kodominantni markeri su predstavljeni sa određenim brojem "bendova" koliko ih alel ima, zbog toga, ukoliko se u najprostijem slučaju (prisutan ili odsutan) "bend" (alel) javlja kod manje od 95% individua koje se koriste u istraživanju, lokus se smatra polimorfnim. Odnos broja polimorfnih lokusa i ukupnog broja lokusa predstavlja procenat polimorfnih lokusa.

Indeks polimorfizma je predložen kao mera informativnosti markera dva povezana gena. Informativnost, u ovom kontekstu, je predstavljena verovatnoćom da potomstvo roditelja nosi redak alel na označenom lokusu koji će omogućiti umanjenje roditeljskog genotipa na markiranom lokusu (Botstein *et al.*, 1980).

Izračunavanje frekvencija alela podrazumeva određivanje heterozigotnosti i kod dominantnih markera pretpostavku Hardy-Weinbergovog zakona ravnoteže. Pretpostavka Hardy-Weinbergovog zakona ravnoteže podrazumeva da učestalost alela, gena i genotipova ostaje nepromenjena tokom niza generacija, ukoliko je populacija u ravnoteži. Pošto kod dominantnih markera ne postoji mogućnost određivanja heterozigotnosti, a u pojedinim slučajevima ne ispunjavaju pretpostavku Hardy-Weinbergovog ekvilibrijuma, predlaže se da studije sa nemogućnošću određivanja frekvencije alela treba da koriste alternativne pristupe za izračunavanje divergentnosti kao što je Shannon-ov indeks. Prvenstveno zbog njegove relativne neosetljivosti prema nemogućnosti detektovanja heterozigotnosti (Bussel, 1999; Dawson *et al.*, 1995). Prosek svih lokusa predstavlja divergentnost u okviru grupe i ovaj indeks je izračunavan kao mera divergentnosti u studijama biljnih genetičkih resursa koje su koristile i dominantne i kodominantne markere (Laurentin, 2009).

Heterozigotnost predstavlja verovatnoću da se dva nasumično izabrana alela (sa istog lokusa) u populaciji razlikuju međusobno. Najpogodniji indeksi za dobijanje pregleda genetičke divergentnosti u okviru grupe su heterozigotnost za kodominantne markere i divergentnost gena za dominantne markere (Laurentin, 2009).

### **3.4.2. Određivanje genetičke divergentnosti između grupa**

Prilikom ocenjivanja biljnih genetičkih resursa, ukupna divergentnost u okviru vrste može biti podeljena unutar grupe i između grupa. Postoje brojni kriterijumi za deljenje grupa, bilo prirodni ili veštački (koje definiše istraživač), pa su stoga neophodne informacije o ispitivanom materijalu kako bi se grupe оформile.

Za proučavanje divergentnosti unutar i između populacija najčešće se koristi AMOVA (Analiza molekularne varijanse), kao i metodologije zasnovane na frekvencijama alela kao što su Wright-ov fiksacioni indeks, Shannon-ov indeks, i

takozvani parametri po Nei-u (Excoffier *et al.*, 1992; Wright, 1943, 1951; Shanon and Weaver, 1949; Nei, 1973, 1978, po redosledu). Svi ovi pristupi su zasnovani na hipotezi da bi izolacija trebalo da dovede do diferencijacije između grupa; prihvatanje ili odbacivanje ove hipoteze bi pružilo uvid u genetičku strukturu podeljene grupe. Određivanje genetičke strukture će imati posledice na oplemenjivanje i očuvanje vrsta (Laurentin, 2009).

Analiza molekularne varijanse (AMOVA) je u suštini analiza varijanse predložena za identifikaciju molekularne varijacije unutar i između grupa, zasnovana na kvadratima rastojanja poređenja parova svih individualnih rasporeda "bendova" na različitim hijerarhijskim nivoima. Glavna razlika u poređenju sa konvencionalnom analizom varijanse je u testiranju značajnosti komponenti varijanse. U tu svrhu, kod konvencionalne analize varijanse, se polazi od prepostavke normalne raspodele podataka, dok to nije slučaj kod molekularnih podataka. Najjednostavniji model AMOVA predstavlja hijerarhijsku strukturu u kojoj su izvori varijacije među grupama, unutar grupa i pogreška. Smisao značajnih razlika između grupa je da je varijansa između grupa veća od 0; odnosno da je korelacija između dva individualna rasporeda "bendova" nasumično izabranih iz neke podgrupe veća od korelacije između dva individualna rasporeda "bendova" nasumično izabranih iz cele grupe. Procenat ukupne varijanse između grupa predstavlja fiksacioni indeks između podgrupa ( $F_{ST}$ ). Ovaj metod čini se da je adekvatniji za procenu genetičkog diverziteta od metoda zasnovanih na frekvencijama alela, zbog fleksibilnosti u odnosu na teorijske prepostavke (Laurentin, 2009). AMOVA se koristi za procenu genetičkog diverziteta kod biljnih genetičkih resursa, kako kod dominantnih tako i kod kodominantnih markera (Heider *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007; Hai *et al.*, 2007). Slično kao i kod konvencionalne analize varijanse test značajnosti kod AMOVA ukazuje samo na činjenicu da li postoje razlike između grupa ili ne. Kako bi se utvrdilo poreklo značajnih razlika slede višestruka poređenja, pomoću kojih se kreira matrica koja prikazuje  $F_{ST}$  vrednosti za svako poređenje odgovarajuće vrednosti verovatnoće (Laurentin and Karlovsky, 2006).

### **3.4.3. Klasifikacioni i ordinacioni metodi**

Nakon određivanja sličnosti između parova individua u okviru grupa, odnosi unutar grupa i između grupa mogu biti proučavani klasifikacionim i ordinacionim metodima. Klaster analiza sortira individue hijerarhijski, tako da je svaka individua veoma slična drugima u klasteru uz poštovanje unapred određenog kriterijuma selekcije. Nastale grupe individua imaju visoku bliskost, unutar klastera, i visoku udaljenost između klastera. Postoji nekoliko klasifikacionih algoritama (single linkage, complete linkage, unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA), weighted pair-group method using arithmetic averages (WPGMA), unweighted pair-group method using the centroid average (UPGMC), weighted pair-group method using arithmetic averages (WPGMC), Ward), kojima se definišu pravila klasiranja individua u specifične grupe na osnovu mera bliskosti (udaljenosti). UPGMA je najčešće korišćen, ali to ne znači da je najprikladniji za sva istraživanja. Klaster analiza može biti nestabilna kada treba da se grupiše veliki broj individua prosečnih bliskosti/udaljenosti u međusobnom poređenju. U takvom slučaju individue nisu priključene specifičnom klasteru, već formiraju veći broj klastera od manjeg broja individua (Laurentin, 2009).

Ordinacioni metodi prevazilaze ovaj problem, jer se klasiranje u grupe ne vrši hijerarhijski, već oni predstavljaju odnose između individua baziranih na prisustvu ili odsustvu DNK markera, u prostoru malog broja dimenzija. Postoji nekoliko ordinacionih metoda, ali za ocenjivanje diverziteta biljnih genetičkih resursa najčešće korišćeni su višedimenziono skaliranje (MultiDimensionalScaling) i metodi zasnovani na analizama karakterističnih vrednosti, kao što su analiza glavnih ordinata (Principal coordinate analysis - Pcoord), analiza glavnih komponenata (Principal component analysis - PCA) i korespondentna analiza (Correspondence analysis – CA)(Kruskal 1964; Gower, 1966; Jolliffe, 2002; Hill and Gauch, 1980; po redosledu). Kod analiza karakterističnih vrednosti višedimenzioni prostor je kreiran da poseduje onoliko dimenzija koliko ima promenljivih, gde svaka nova ordinatna osa je vektor karakteristične vrednosti povezan sa tom vrednošću. Karakteristične vrednosti predstavljaju značaj date dimenzije u analizi, s tim da prva dimenzija ima najveću vrednost. Karakteristične vrednosti za Pcoord i PCA analizu predstavljaju

varijansu, dok kod korespondentne analize one predstavljaju koeficijente korelacije. Naravno, u ocenjivanju genetičkog diverziteta biljnih genetičkih resursa, ima manje individua nego umnoženih fragmenata. U takvim slučajevima rezultati dobijeni analizom glavnih ordinata i analizom glavnih komponenti se neće razlikovati od rezultata baziranih na Euklidskim distancama. Korespondentna analiza predstavlja sličnosti između individua baziranih na  $\chi^2$  udaljenosti (Laurentin, 2009). Za analizu molekularnih podataka, ovaj pristup bi trebalo da bude prikladniji nego druga dva, jer je osetljiviji u otkrivanju sličnosti na osnovu retkih alela, koje deli nekoliko genotipova (Beebe *et al.*, 2000).

Klaster analiza i ordinacioni metodi se nadopunjaju u interpretaciji odnosa između individua prilikom procene diverziteta biljnih genetičkih resursa, jer imaju različite teorijske osnove. Zbog toga sličnosti u dobijenim rezultatima korišćenjem ova dva pristupa mogu da se koriste kao empirijska mera tačnosti (Laurentin and Karlovsky, 2006).

#### **4. RADNA HIPOTEZA**

Obzirom na različito genetičko poreklo kao i prisustvo odnosno odsustvo gena autosterilnosti/autofertilnosti odabranih multigermnih genotipova šećerne repe, očekuje se postojanje genetičke divergentnosti između ispitivanih genotipova, kao i unutar pojedinih grupa genotipova (populacije slobodne oplodnje). U zavisnosti od porekla multigermnih genotipova očekuju se i različite vrednosti u nivou heterozigotnosti - visok nivo kod populacija slobodne oplodnje i nizak kod inbred linija.

Takođe, prepostavlja se da će vrednosti opštih kombinacionih sposobnosti ispitivanih opršivača biti različite. U slučaju pojave značajnih vrednosti za opšte kombinacione sposobnosti roditelja za neko svojstvo, očekuje se veći doprinos aditivne komponente genetičke varijanse za ispitivano svojstvo.

Ispitivanjem vrednosti posebnih kombinacionih sposobnosti ukrštanja želi da se utvrdi mogućnost pojave superiornog potomstva u odnosu na roditelje u F<sub>1</sub> generaciji, odnosno heterotični efekat. Ako određena ukrštanja za neko svojstvo budu imala značajno bolje vrednosti posebnih kombinacionih sposobnosti, očekuje se veći doprinos dominantne komponente genetičke varijanse za to svojstvo.

Poznavanje efekta gena i načina nasleđivanja za ispitivana svojstva korena šećerne repe omogućiće pravilan izbor metoda poboljšanja populacija koje daju superiorna potomstva sa pojedinim citoplazmatično-nuklearno muško sterilnim linijama.

## **5. MATERIJAL I METOD RADA**

### **5.1. Biljni materijal**

Odabrani materijal se sastojao od 12 multigermnih oprašivača šećerne repe, 4 oprašivača iz oplemenjivačkog programa Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad i 8 oprašivača iz oplemenjivačkih programa tri istraživačka centra Ministarstva poljoprivrede SAD (USDA-ARS) (tab. 2). Svi polinatori su bili multigermni i posedovali su otpornost prema rizomaniji.

U zavisnosti od prisustva gena autofertilnosti oprašivači su bili podeljeni u tri grupe, (a) autofertilni (inbred linije), (b) autosterilni (populacije slobodne oplodnje) i (c) oprašivači kod kojih je gen autofertilnosti unet u populaciju preko roditeljskih komponenti, ali nije fiksiran i zbog toga u ovim populacijama u potomstvima dolazi do razdvajanja na autofertilne i autosterilne genotipove. Pored razlike u odnosu na prisustvo gena autofertilnosti, oprašivači su se razlikovali u morfološkim svojstvima i nivou otpornosti prema cerkospori. Materijal iz oplemenjivačkog programa tri istraživačka centra Ministarstva poljoprivrede SAD-a je posedovao brojna poželjna svojstva kao što su gladak koren, visok sadržaj šećera i otpornost prema bolestima i štetočinama.

Kao testeri korišćene su dve citoplazmatičnomuške sterilne linije, NS 138 MS i NS 079 MS Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, u daljem tekstu označene kaocms1 i cms2, otporne prema rizomaniji, različitim morfološkim svojstava.

Tabela 2. Poreklo i prisustvo gena autofertilnosti ispitivanih multigermnih opaćivača

Oprćivač	Autofertilnost	Poreklo
EL0204	$S^s S^s$	USDA-ARS (Michigan)
EL53	$S^s S^s$	USDA-ARS (Michigan)
NS1	$S^s S^s$	Institut za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad
NS2	$S^s S^s$	Institut za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad
NS4	$S^s S^s$	Institut za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad
C51	$S^s S^s$	USDA-ARS (Salinas)
CR10	$S^f S^f$	USDA-ARS (Salinas)
C930-35	$S^f S^f$	USDA-ARS (Salinas)
CZ25-9	$S^f S^f$	USDA-ARS (Salinas)
FC221	$S^f S^f$	USDA-ARS (Fort Collins)
NS3	$S^f -$	Institut za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad
FC220	$S^f -$	USDA-ARS (Fort Collins)

$S^f$  – gen autofertilnosti,  $S^s$  – gen autosterilnosti

## 5.2. Kombinacione sposobnosti i statistička analiza

Proizvodnja semena hibrida  $F_1$  generacije obavljena je ukrštanjem multigermnih opaćivača sa monogerminim cms linijama tokom 2010. godine na eksperimentalnim poljima u Rimskim šančevima, Instituta za ratarstvo i povtarstvo, Novi Sad.

Poljski ogled je postavljen po slučajnom blok sistemu u tri ponavljanja, na zemljištu tipa černozem, u uslovima uobičajene agrotehnike za šećernu repu, tokom 2011. i 2012. godine. Gustina sklopa je bila  $50 \times 20$  cm. Vađenje repe je

obavljeno ručno u septembru. Kod roditelja i F<sub>1</sub> hibrida analizirana su sledećasvojstva:

- Masa korena (g),
- Sadržaj šećera (%),
- Sadržaj suve materije (%),
- Masa glave korena (g),
- Obim korena (cm),
- Iskorišćenje šećera (%),
- Prinos kristalnog šećera (g).

Osnovni uzorak se sastojao od 30 biljaka, 10 biljaka po ponavljanju bez rubnih biljaka. Pojedinačno su mereni masa korena, sadržaj suve materije, masa glave korena i obim korena za svaku biljku. Analiza kvaliteta korena (sadržaj šećera, sadržaj nešećera i sadržaj suve materije) je urađena u Laboratoriji za ispitivanjem kvaliteta korena šećerne repe Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, prema standardnim metodima. Dobijeni podaci su iskorišćeni za izračunavanje prinosa kristalnog šećera prema metodu Reinefeld *et al.* (1974):

$$\text{Lost to molasses MS} = 0.343 * (\text{K} + \text{Na}) + 0.094 * \text{amino-N} - 0.31.$$

[K, Na and amino-N izraženi u meq (100 g<sup>-1</sup> šećerne repe)]

Iskorišćenje šećera je izračunato korišćenjem formule Reinefeld *et al.* (1974):

$$\text{Iskorišćenje šećera} = \text{sadržaj šećera} - \text{MS} - \text{SFL}$$

$$\text{Standardni gubici u fabrici, SFL} = 0.6.$$

$$\text{Prinos kristalnog šećera (PKS)} = \text{masa korena} * \text{iskorišćenje šećera}.$$

Dobijeni rezultati su obrađeni linija x tester analizom (Singh and Chaudhary, 1976). Ovom metodom određeni su:

1. Analiza varijanse (ANOVA), pri čemu se utvrđivalo da li je značajna razlika između genotipova roditelja i njihovih hibrida.

Tabela 3. ANOVA za linija x tester uključujući roditelje

Izvori varijacije	Stepeni slobode	Suma kvadrata	Sredina kvadrata	F vrednost
Tretmani/genotipovi	q-1	SSq	MSq	$MSq/MSe$
Roditelji	l+t-1	SSr	MSr	$MSr/MSe$
Roditelji preko ukrštanja	q-l-t-lxt+1	SSru	MSru	$MSru/MSe$
Ukrštanja	lxt-1	SSu	MSu	$MSu/MSe$
Linije	l-1	SSI	MSI	$MSI/MSe$
Testeri	t-1	SSt	MSt	$MSt/MSe$
Linija x tester	lxt-l-t+1	SSlt	MSlt	$MSlt/MSe$
Pogreška	(p-1)x(q-1)	SSe	MSe	
<b>Ukupno</b>	N-1	SS		

p- broj ponavljanja, q- broj tretmana, l- broj linija, t- broj testera.

## 2. Kombinacione sposobnosti:

- a) Procena opštih kombinacionih sposobnosti linija:

$$g_i = \frac{\sum X_{i...}}{t * p} - \frac{\sum X_{...}}{l * t * p}; \quad \sum X_{i...} - \text{total linije sa testerima},$$

$\sum X_{...}$  - total ukrštanja.

- b) Procena opštih kombinacionih sposobnosti testera:

$$g_j = \frac{\sum X_{...j}}{l * p} - \frac{\sum X_{...}}{l * t * p}; \quad \sum X_{...j} - \text{total testera sa linijama},$$

$\sum X_{...}$  - total ukrštanja.

- c) Procena posebne kombinacione sposobnosti za svako ukrštanje:

$$s_{ij} = \frac{X_{ij}}{p} - \frac{\sum X_{i...}}{t * p} - \frac{\sum X_{...j}}{l * p} + \frac{\sum X_{...}}{l * t * p}; \quad X_{ij} - \text{vrednost za svako ukrštanje}.$$

### 3. Standardna greška

a) Standardna greška za OKS linija:

$$SEI = \sqrt{\frac{MSe}{p * t}}; \quad MSe - \text{sredina kvadrata pogreške}$$

b) Standardna greška za OKS testera:

$$SEt = \sqrt{\frac{MSe}{p * l}}$$

c) Standardna greška za PKS:

$$SEpks = \sqrt{\frac{MSe}{p}}$$

d) Standardna greška razlike linija:

$$SE(g_i-g_j) \text{ linije} = \sqrt{\frac{2 * MSe}{p * t}}$$

e) Standardna greška razlike testera:

$$SE(g_i-g_j) \text{ testera} = \sqrt{\frac{2 * MSe}{p * l}}$$

f) Standardna greška razlike ukrštanja:

$$SE(s_{ij}-s_{kj}) = \sqrt{\frac{2 * MSe}{p}}$$

### 4. Genetičke komponente:

a) Kovarijansa polusrodstva linija:

$$CovHSI = \frac{MSl - MSlt}{p * t}$$

b) Kovarijansa polusrodstva testera:

$$CovHSt = \frac{MSt - MSlt}{p * l}$$

c) Kovarijansa proseka polusrodstva:

$$CovHS = \frac{l}{p * (2 * l * t - l - t)} * \left[ \frac{(l-1) * MSl + (t-1) * MSt}{l + t - 2} - MSlt \right]$$

d) Kovarijansa punog srodstva:

$$CovFS =$$

$$\frac{(MSl - MSe) + (MSt - MSe) + (MSlt - MSe) + 6 * p * CovHS - p * (l + t) * CovHS}{3 * p}$$

e) Varijansa OKS:

$$\delta^2 \text{oks} = \text{CovHS} = \frac{1+F}{4} * \delta^2 A; \quad F - \text{koeficijent inbreedinga}$$

$\delta^2_A$  - aditivna varijansa

f) Varijansa PKS:

$$\delta^2 \text{pks} = \frac{MSlt - MSE}{p} = \left[ \frac{1+F}{2} \right]^2 * \delta^2 D; \quad \delta^2_D - \text{dominantna varijansa}$$

5. Proporcionalni doprinos linija, testera i njihovih ukrštanja u ukupnoj varijabilnosti:

$$\text{Doprinos linija} = \frac{SSl}{SSu} * 100,$$

$$\text{Doprinos testera} = \frac{SSt}{SSu} * 100,$$

$$\text{Doprinos linija x tester} = \frac{SSlt}{SSu} * 100.$$

Pojedinačno za svaki genotip i svako ispitivano svojstvo izračunata je srednja vrednost, standardna greška srednje vrednosti i koeficijent varijacije. Testom najmanje značajne razlike proveravane su razlike između ispitivanih oprašivača šećerne repe. Način nasleđivanja je procenjen pomoću testa značajnosti srednjih vrednosti  $F_1$  generacije u poređenjusa srednjim vrednostima roditelja (Borojević, 1965).

U cilju određivanja genetičke divergentnosti ispitivanih genotipova i uz pomoć programa *Statistica for Windows ver. 12, StatSoft.Inc.*, izvršena je analiza grupisanja, koristeći kvadrate Euklidovih distanci. Pojedinačno za svako svojstvo, kao i na osnovu svih svojstava zajedno konstruisani su dendrogrami, odnosno izvršeno je objedinjavanje genotipova u grupe na osnovu njihove bliskosti.

### **5.3. Izolacija i kvantifikacija genomske DNK**

Biljni materijal za ekstrakciju DNK je uzet u polju tokom prve godine istraživanja. Uzeto je 10 biljaka šećerne repe od svakog genotipa roditelja. Uzorci su čuvani zamrznuti do izolacije genomske DNK.

Genomska DNA je izolovana iz listova šećerne repe prema modifikovanom protokolu Somma (2004):

1. U prethodno rashlađene avane staviti po 5ml CTAB pufera za ekstrakciju (20g/l CTAB, 1.4M NaCl, 0.1 M Tris-HCl (pH=8), 20mM Na<sub>2</sub>EDTA), 10μl 1% merkaptoetanola i na kraju ubaciti 1,5g iseckanih listova šećerne repe
2. Izmacerisati dok se ne dobije homogena smeša koju zatim treba prebaciti u falkone
3. Dodati 100μl proteaze K (20mg/l), izmešati na vorteksu i inkubirati 45 min na 60°C
4. Dodati 100μl Rnaze A (10mg/μl), izmešati na vorteksu i inkubirati 10 min na 65°C
5. Centrifugovati 15 min na 11000rpm
6. Supernatant preneti u nov falkon i dodati istu zapreminu hloroformu, a potom mešati na vorteksu 30 sekundi
7. Centrifugovati 15 min na 11000rpm dok ne dođe do razdvajanja faza
8. Supernatant (gornji bijeli sloj) prebaciti u nov falkon i dodati istu zapreminu hloroformu, potom izmešati na vorteksu 30 sekundi
9. Centrifugovati 10 min na 11000rpm
10. Supernatant preneti u nov falkon i dodati dva volumena CTAB pufera za precipitaciju (5g/l CTAB, 0.04M NaCl) i blago izmešati
11. Inkubirati 60 min na sobnoj temperaturi i potom centrifugirati 10 min na 11000rpm
12. Odbaciti supernatant, a talog rastvoriti u 350μl NaCl (1.2M)
13. Dodati 350μl hloroformu i mešati nekoliko sekundi na vorteksu
14. Centrifugovati 10 min na 11000rpm
15. Preneti gornji sloj u kivetu i dodati 0,6 volumena izopropanola, potom izmešati okretanjem kivete gore-dole nekoliko puta
16. Centrifugovati 10 min na 11000rpm

17. Odbaciti gornji sloj, a talog isprati dodavanjem 500µl 70% etanola
18. Sadržaj kivete pažljivo izmešati okretanjem nekoliko puta
19. Centrifugovati 10 min na 11000rpm
20. Prosuti supernatant, a talog ostaviti da se osuši na sobnoj temperaturi oko 30 minuta
21. Talog rastvoriti u 40µl sterilne H<sub>2</sub>O.

Koncentracija izolovane DNK određena je poređenjem sa standardima poznate koncentracije (λ DNK, Promega). Nakon određivanja koncentracija, DNK uzorka je ujednačena na radnu zapreminu od 30ng/µl i korišćena za PCR analizu.

#### **5.4. Prajmeri i PCR amplifikacija**

SSR prajmeri, korišćeni u ovom istraživanju, su odabrani na osnovu broja i veličine umnoženih fragmenata koje se dobijaju PCR amplifikacijom, kao i povezanošću sa određenom *linkage* grupom šećerne repe (tab. 4)(McGrath *et al.*, 2007, McGrath, lična komunikacija). Prajmeri su dobijeni u liofilizovanom obliku, a potom su rastvoren po uputstvu proizvođača (*Metabion*).

Tabela 4. Prajmeri korišćeni u istraživanju

Oznaka prajmera	Sekvence prajmera	Linkage grupa	PCR program	Razdvajanje
521.6	5'-AATAAAAAATGTTAAAAAGCAC-3' 5'-AAAACAGAGGTAAATCGGTAAAC-3'	LG1	SSR55T	Metafor 3%
BQ583448	5'-TATTGTTCTAAGGCACGCA-3' 5'-CGCTATCCTCTTCGTCAA-3'	LG1	SSR53	Metafor 2,5%
BI096078	5'-CAATTCCCCTTCCAAAAACA-3' 5'-GCTAAACCAAACCCATGTGC-3'	LG1	SSR54	Agaroza 2%
BQ587491	5'-GTAAGTCCCGCAGTCAA-3' 5'-ACAGTAGACAACGACGCA-3'	LG1	SSR55T	SVI
FDSB1300	5'-AATTAAACGCGAGAGCAGC-3' 5'-TCAGCTCTGGCTTTGT-3'	LG2	SSR56	Metafor 2,5%
BQ584037	5'-TGAGGAGAGAGAAAGTGAAGA-3' 5'-ACCATCAAGCCAATCAGTAA-3'	LG2	SSR54	Metafor
EG551958	5'-ATAACTCTGCCTACAAATGA-3' 5'-TCTACCTTGCCCCGTAAACT-3'	LG2	SSR55T	PAGE 5%
BI543628	5'-GAACTCCTTGACAGCATCTT-3' 5'-CCTTCAGCATCTCTCTCTC-3'	LG3	SSR57T	Metafor 2,5%
BQ593366	5'-ATCTTCACTCTCCCTCTCC-3' 5'-GTTACTCTTCACTTCCGCC-3'	LG4	SSR57T	SVI
SB06	5'-AAATTTCGCCACCCTGTC-3' 5'-ACCAAAGATCGAGCGAAGAA-3'	LG4	SSR56T	PAGE 8%
SB07	5'-TGTGGATGCGCTTCTTTTC-3' 5'-ACTCCACCCATCCACATCAT-3'	LG4	SSR56	Metafor 2,5%
BQ591109	5'-CTCTCTCATTCTCTCCCTC-3' 5'-ACACTCAAGCACTCACCCT-3'	LG4	SSR58T	PAGE 8%

DX580514	5'-CTTAATGCCTCTTGCTAA-3' 5'-ATAGACCTCCTGTGGGAAAC-3'	LG4	SSR56	Metafor 2,5%
BU089565	5'-GCTTGGGGCACTTGGCATT-3' 5'-CTATACGTTGTGACCACGTG-3'	LG5	SSR58	PAGE 6%
EG552348	5'-GGTGGTTATGCTCCTCCT-3' 5'-GGCTTTAGTCTTATTGCTGTG-3'	LG5	SSR56T	Metafor 2,5%
SB15	5'-CACCCAGCCTATCTCTGAC-3' 5'-GTGGTGGGCAGTTTAGGAA-3'	LG5	SSR56T	PAGE 8%
SB04	5'-ACCGATCACCAATTACCAT-3' 5'-GTTTGTGTTGGCGAAATG-3'	LG5	SSR54	Metafor 3%
BvGTT1	5'-CAAAGCTCCCTAGGCTT-3' 5'-ACTAGCTCGCAGAGTAATCG-3'	LG6	SSR54	Metafor 2,5%
FDSB568	5'-TTCTGGGGATGATTTCCTCG-3' 5'-CCGGGACAGAGAGAACAGAG-3'	LG6	SSR56T	Metafor 2,5%
BQ487642	5'-ATCAAACCTCCCTCTGTCTC-3' 5'-TTACAACAAACAACAACAAA-3'	LG6	SSR53	Metafor 2,5%
BQ587532	5'-ATTGGTGGTTATCTTCCTCC-3' 5'-TAATCGTGGTAGGTTGTCTTC-3'	LG6	SSR56T	Metafor, PAGE 8%
DX580646	5'-CTCCATTCCAAGGTCCC-3' 5'-GGTGAGCAGAGTCGGTATT-3'	LG6	SSR56T	Metafor, PAGE 8%
FDSB1011	5'-CAACTTATTAAGCCTTTAGTGC-3' 5'-GATCCATTATTCGTGTTGA-3'	LG7	SSR54T	PAGE 6%
FDSB502	5'-GCAAAACCCAAAACCCCTT-3' 5'-TTTCTCTCTCCCTCTCTCCTC-3'	LG7	SSR54	Metafor 2,5%
FDSB990	5'-TCTCACCTGAAATCCGAACC-3' 5'-CCATCGTAACTCGGTGACT-3'	LG7	SSR58	Metafor 2,5%
FDSB1250	5'-TTCACCGCCTGAATCTTTTC-3' 5'-CGACGAAGAACATCGGGTAAAA-3'	LG7	SSR56	PAGE 8%
BU089576	5'-GGTTGCACTTTCTTAGATGG-3' 5'-GAGCCAATCAATCTTCAGCC-3'	LG7	SSR58	Metafor, PAGE 5%
BI073246	5'-ACGAGGAACAAATCCACACC-3' 5'-CAACACCAGGTGCGATGTTG-3'	LG8	SSR58T	PAGE 6%
BQ582799	5'-CCTTGGCCGCTCTTTCA-3' 5'-CTCCCGTAGGCGTCTCTTCAT-3'	LG8	SSR57T	PAGE 4%
BQ590934	5'-ATCTCTGCCTCTACCGCC-3' 5'-GCATTTGATTGTTATCTCTCTC-3'	LG8	SSR58	PAGE 8%
FDSB1007	5'-ATTAGAATAGCATCAATTGTGG-3' 5'-CCTTATAAGTGGATTGAGAAA-3'	LG8	SSR55T	Metafor 2,5%
BQ588989	5'-CATCATCACCTCTCCTCC-3' 5'-CTCTCTCTCTCCCTCATC-3'	LG9	SSR57T	PAGE 6%
FDSB1001	5'-ACTTCAACCACTATCACAAAGTGGAG-3' 5'-ATCTTATGCTGCCATGACCA-3'	LG9	SSR56	Metafor 2,5%
FDSB1033	5'-GCTGAGATGATGTTAGGGC-3' 5'-TTCAAATCGCCATCTCCCAG-3'	LG9	SSR58T	Metafor 2,5%

Za PCR reakciju je korišćeno 23 $\mu$ l reakcione smeše i 2 $\mu$ l DNK. Reakciona smeša za analizu jednog uzorka je sadržavala sledeće komponente:

1. 10xPCR pufer (*Fermentas*) 2,5 $\mu$ l
2. dNTPs (2mM) 2,5 $\mu$ l
3. Sens prajmer (10pmol/ $\mu$ l) 1,0 $\mu$ l
4. Antisens prajmer (10pmol/ $\mu$ l) 1,0 $\mu$ l
5. Taq polimeraza (*Fermentas*, 5U/ $\mu$ l) 0,3 $\mu$ l
6. Voda 15,7 $\mu$ l

Umnožavanje DNK se odvijalo u PCR aparatima *T-personal* i *T1Thermocycler* (*Biometra*, Nemačka). Uslovi amplifikacije su se razlikovali u zavisnosti od odabranih prajmera, tako da se u istraživanjima koristilo devet PCR programa (tab. 5). Krajnja ekstenzija svih programa amplifikacije se odvijala na 72°C u trajanju od 5 minuta.

Tabela 5. Uslovi amplifikacije PCR programa

Program	Uslovi amplifikacije
SSR 53	Početna denaturacija 3 min na 94°C, zatim 43 ciklusa: 94°C 30s, 53°C 40s, i 72°C 50 s.
SSR 54	Početna denaturacija 3 min na 94°C, zatim 43 ciklusa: 94 °C 30 s, 53,8 °C 40 s i 72 °C 50 s.
SSR 54T	Početna denaturacija 2 min na 94°C, zatim 10 ciklusa: 94°C 30s, 54°C 30s sa snižavanjem temperature za 0,7°C u svakom narednom ciklusu, 72°C 50s, a zatim 33 ciklusa: 94°C 30s, 47°C 30s i 72°C 50s.
SSR 55T	Početna denaturacija 2 min na 94°C, zatim 10 ciklusa: 94°C 30s, 55°C 30s, sa snižavanjem temperature za 0,8°C u svakom narednom ciklusu, 72°C 50s, a zatim 31 ciklus: 94°C 30s, 47°C 30s i 72°C 50s.
SSR 56	Početna denaturacija 3 min na 94°C, zatim 43 ciklusa: 94°C 30s, 55,5°C 40s i 72°C 50s.
SSR 56T	Početna denaturacija 2 min na 94°C, zatim 11 ciklusa: 94°C 30s, 55,8°C 30s, sa snižavanjem temperature za 0,8°C u svakom narednom ciklusu, 72°C 50s, a zatim 31 ciklus: 94°C 30s, 47°C 30s i 72°C 50s.
SSR 57T	Početna denaturacija 2 min na 94°C, zatim 12 ciklusa: 94°C 30s, 56,6°C 30s, sa snižavanjem temperature za 0,8°C u svakom narednom ciklusu, 72°C 50s, a zatim 31 ciklus: 94°C 30s, 47°C 30s i 72°C 50s.
SSR 58	Početna denaturacija 3 min na 94°C, zatim 43 ciklusa: 94°C 30s, 57,5°C 40s i 72°C 50s.
SSR 58T	Početna denaturacija 2 min na 94°C, zatim 13 ciklusa: 94°C 30s, 57,4°C 30s, sa snižavanjem temperature za 0,8°C u svakom narednom ciklusu, 72°C 50s, a zatim 30 ciklusa: 94°C 30s, 47°C 30s i 72°C 50s.

Razdvajanje dobijenih PCR produkata vršeno je na agaroznim, metaphor agaroznim i poliakrilamidnim gelovima, različite koncentracije.

Agarozni gelovi su pravljeni sa TAE puferom i agarozom (Agarose, SPI, Duchefa Biochemie). U gel je dodavan etidijum bromid (EtBr) radi vizuelizacije fragmenata. Elektroforeza je izvođena 2-2,5h pri voltaži od 130V.

Gelovi sa Metaphor agarozom visoke rezolucije(Lonza) su pravljeni sa TAE puferom.Takođe je dodavan EtBr. Elektroforeza je izvođena 2-2,5h pri voltaži od 130V.

Poliakrilamidni gelovi različitih koncentracija (4, 5, 6, 8%) pravljeni su dodavanjem određene količine (13,3ml, 16,7ml, 20ml i 26,6ml) akrilamid/bisakrilamida odnosa 19:1, 30% koncentracije u TAE pufer. Potom je dodato 750µl 10% amonijum persulfata i 150µl TEMEDa. Elektroforeza je izvođena sat vremena pri naponu od 110V i tri sata pri naponu od 120V, na temperaturi od 4°C.

Gelovi su fotografisani pod UV svetлом. Za određivanje veličine dobijenih PCR produkata korišćena je DNK lestvica *GeneRuler™100bp ladder Plus* (*Fermentas*).

### **5.5. Analiza podataka**

Umnoženi fragmenti su očitavani pojedinačno za svaki prajmer sa fotografisanih gelova. Aleli su u zavisnosti od brzine migracije obeležavani kao A, B, C, D itd. (od najbržeg ka najsporijem). Na osnovu dobijenih slika su očitavani genotipovi kao homo odnosno heterozigotni.

Procena genetičke varijabilnosti je urađena pomoću programa POPGENE version 1.32 (Yeh *et al.*, 1997). Određivane su vrednosti sledećih parametara: broj i procenat polimorfnih lokusa, efektivan broj alela po lokusu, heterozigotnost zasnovanu na frekvenciji alela, posmatrana heterozigotnost, kao i Shannon-ov indeks divergentnosti zasnovan na frekvenciji markera (Kimura and Crow, 1964; Nei, 1973; Shannon and Weaver, 1949, po redosledu). Izračunavanje parametara je vršeno pojedinačno za svaku populaciju i za prosečnu vrednost svih uzoraka.Za procenu komponenti varijanse između i u okviru ispitivanih populacija urađena je

analiza molekularne varijanse – AMOVA, čiji je opšti model prikazan u tabeli 6, pomoću populaciono-genetičkog programa Arlequin 3.11 (Excoffier *et al.*, 1992; Excoffier *et al.*, 2005, po redosledu). Kako bi se bolje razumeli međusobni odnosi urađena je AMOVA izmedju svih proučavanih populacija gde je statistička značajnost  $\Phi_{ST}$  vrednosti testirana pomoću  $10^3$  permutacija. Na osnovu matrice  $\Phi_{ST}$  vrednosti konstruisan je dendrogram primenom *Neighbour-joining* algoritma u programu PHYLIP 3.5 (Felstein, 1989). Korespondentna analiza je upotrebljena sa ciljem predstavljanja odnosa populacija i individua u dvodimenzionalnom prostoru primenom programa R (R Developmental Team 2013).

Tabela 6. Opšti model analize molekularne varijanse (AMOVA)

Izvori varijacije	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	Očekivana sredina kvadrata
Između grupa	$G - 1$	MSD(IG)	$\sigma_c^2 + n' \sigma_b^2 + n'' \sigma_a^2$
Između populacija unutar grupa	$\sum_{g=1}^G I_g - G$	MSD(IP/UG)	$\sigma_c^2 + n \sigma_b^2$
Između individua unutar populacija	$N - \sum_{g=1}^G I_g$	MSD(UP)	$\sigma_c^2$
Ukupno	$N - 1$		

G – broj grupa, I – broj populacija, n-koeficijenti – prosečna veličina uzorka pojedinih hijerarhijskih nivoa

## 5.6. Vremenski uslovi

Obe godine istraživanja obeležila je suša tokom drugog dela vegetacionog perioda, s tim da je ona bila izraženija tokom 2012. godine i to prvenstveno zbog male količine zimskih padavina (tab. 7). Pored nedostatka padavina u 2011. godini tokom letnjih meseci temperatura vazduha je u proseku bila za  $5,0^{\circ}\text{C}$  viša od zahteva šećerne repe, a u 2012. godini čak za  $6,4^{\circ}\text{C}$ . Ove vremenske prilike su negativno uticale namasu korena. S druge strane sadržaj šećera je u ovakvim uslovima bio blago povišen u poređenju sa prosečnim godinama.

Tabela 7. Vremenski uslovi tokom perioda istraživanja (izvor RHMZ)

	Padavine (mm)		Temperatura vazduha (°C)		Potrebe šećerne repe	
	2011	2012	2011	2012	mm	°C
Zimske padavine (novembar-mart)	198,5	172,5	-	-	240	-
Mart	-	-	5,8	8,0	-	8,0
April	22,8	83,0	13,2	13,0	40	10,7
Maj	62,4	50,7	16,6	17,2	50	14,2
Jun	36,9	34,0	20,9	21,0	80	18,0
Jul	61,5	48,0	22,2	25,0	80	18,5
Avgust	1,5	0,0	23,0	24,3	65	18,2
Septembar	25,4	13,5	20,4	20,5	35	14,0
Vegetacioni period	210,5	229,2	17,4	18,4	350	14,6
Godišnja količina	409,0	401,7	-	-	590	-

## **6. REZULTATI ISTRAŽIVANJA**

### **6.1. Kvantitativna svojstva**

Izuzetno veliki uticaj nakvantitativna svojstva korena šećerne repe imala je proizvodna godina i to zbog specifičnih klimatskih uslova, odnosno izuzetne suše koja je pogodila region Vojvodine tokom 2012. godine. U takvim uslovima vrednosti pojedinih svojstava su imale velike oscilacije. Masa korena je u 2012. godini kod pojedinih genotipova prepolovljena, dok je sadržaj šećera i sadržaj suve materije bio veći za nekoliko procenata u poređenju sa 2011. godinom. Prinos kristalnog šećera u 2012. godini, kao najvažniji pokazatelj vrednosti genotipa, je bio manji kod većine genotipova za trećinu u odnosu na rezultate ostvarene u 2011. godini.

#### **6.1.1. Masa korena**

U obe godine istraživanja, kod opašivača, najveća masa korena je zabeležena kod populacija poreklom iz East Lansing, Michigan, EL0204 i EL53, s tom razlikom da je u 2011. godini najveća masa korena zabeležena kod opašivača EL0204  $\bar{X} = 713,9\text{g}$ , a u 2012. kod opašivača EL53  $\bar{X} = 427,1\text{g}$ . Sa druge strane najmanja masa korena je zabeležena kod opašivača CR10 iz Salinasa, California (2011,  $\bar{X} = 410,2\text{g}$ ; 2012,  $\bar{X} = 247,5\text{g}$ ). Koeficijent varijacije u obe godine istraživanja je bio veći kod opašivača koji su posedovali gene autosterilnosti, odnosno kod populacija slobodne oplodnje i kretao se od  $V=8,94\%$  do  $V=25,19\%$ , dok se kod autofertilnih opašivača koeficijent varijacije kretao od  $V=1,75\%$  do  $V=16,86\%$ . Prosečna masa korena zabeležena u 2011. godini je bila veća za više od 200g u odnosu na izmerenu masu korena u 2012. godini(tab. 8).

Godina je imala isti uticaj i na testere, tako da je masa korena prepolovljena u drugoj godini istraživanja kod oba testera. S obzirom da su u pitanju citoplazmatičnomuške sterilne linije koeficijent varijacije je bio manji nego kod opašivača i kretao se od  $V=4,6\%$  do  $V=10,27\%$  (tab. 8).

Tabela 8. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F<sub>1</sub> hibrida za masu korena (g) šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	713,9±21,12	16,20
	2012	402,8±6,57	8,94
EL53	2011	699,3±14,20	11,12
	2012	427,1±7,37	9,45
NS 1	2011	577,3±26,56	25,19
	2012	338,7±10,96	17,72
NS 2	2011	589,5±12,0	11,15
	2012	349,5±8,86	13,88
NS 3	2011	575,2±15,49	14,74
	2012	377,0±6,50	9,45
C51	2011	613,1±16,49	14,73
	2012	385,1±10,85	15,44
CR10	2011	410,2±8,43	11,26
	2012	247,5±7,62	16,86
C930-35	2011	610,2±10,07	1,75
	2012	374,5±6,78	9,91
CZ25	2011	565,1±9,45	9,16
	2012	378,8±4,94	7,14
NS 4	2011	364,2±10,85	16,32
	2012	332,8±2,33	3,83
FC221	2011	568,1±13,69	13,20
	2012	285,1±10,67	20,49
FC220	2011	478,0±3,78	4,33
	2012	385,5±4,69	6,66
Prosek	2011	563,7	12,43
	2012	357,0	11,65
NZR 0,05	2011	118,4	
	2012	59,2	
NZR 0,01	2011	160,9	
	2012	80,5	
cms 1	2011	473,0±8,87	10,27
	2012	282,7±4,16	8,07
cms 2	2011	639,9±5,37	4,60
	2012	279,0±7,25	7,25
EL0204xcms1	2011	805,8±26,6 d	18,04
	2012	466,3±12,4 d	14,57
EL0204xcms2	2011	740,6±12,8 d	9,50
	2012	439,7±3,3 d	4,13
EL53xcms1	2011	713,2±16,0 d	12,28
	2012	452,6±5,3 d	6,35
EL53xcms2	2011	837,0±14,6 d	9,57
	2012	389,2±7,4 d	10,34
NS1xcms1	2011	691,0±6,7 d	5,29
	2012	428,3±19,2	24,50

Nastavak tab. 8.

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
NS1xcms2	2011	745,7±6,4 h	4,69
	2012	471,1±14,2 d	16,48
NS2xcms1	2011	689,4±7,9 d	6,31
	2012	427,7±2,8 d	3,54
NS2xcms2	2011	824,1±17,4 h	11,55
	2012	403,3±3,4 d	4,67
NS3xcms1	2011	684,0±15,2 d	12,16
	2012	448,8±7,0 d	8,52
NS3xcms2	2011	826,1±16,9 h	11,20
	2012	395,7±7,5 d	10,44
C51xcms1	2011	792,7±19,6 d	13,52
	2012	411,2±4,5 d	5,93
C51xcms2	2011	815,1±17,8 d	11,97
	2012	399,9±8,9 d	12,14
CR10xcms1	2011	884,9±9,7 h	5,97
	2012	464,2±4,0 h	4,69
CR10xcms2	2011	894,0±20,4 h	12,49
	2012	428,4±5,2 h	6,61
C930-35xcms1	2011	714,6±6,4 h	4,88
	2012	408,3±8,4 d	11,24
C930-35xcms2	2011	843,4±12,7 h	8,24
	2012	460,8±5,3 h	6,26
CZ25xcms1	2011	827,6±20,7 h	13,67
	2012	459,7±10,8 d	12,86
CZ25xcms2	2011	755,4±4,4 h	3,19
	2012	424,9±8,9 d	11,45
NS4xcms1	2011	643,0±8,8 h	7,49
	2012	431,8±3,6 h	4,58
NS4xcms2	2011	672,8±8,5 d	6,89
	2012	332,2±3,5 d	5,70
FC221xcms1	2011	753,4±6,2 h	4,53
	2012	471,4±13,8 h	16,05
FC221xcms2	2011	817,5±14,1 h	9,42
	2012	387,2±5,4 d	7,59
FC220xcms1	2011	757,7±5,5 h	3,95
	2012	437,7±3,8 h	4,81
FC220xcms2	2011	835,0±13,6 h	8,91
	2012	481,4±7,1 h	8,04
Prosek	2011	773,5	8,99
	2012	430,1	9,23

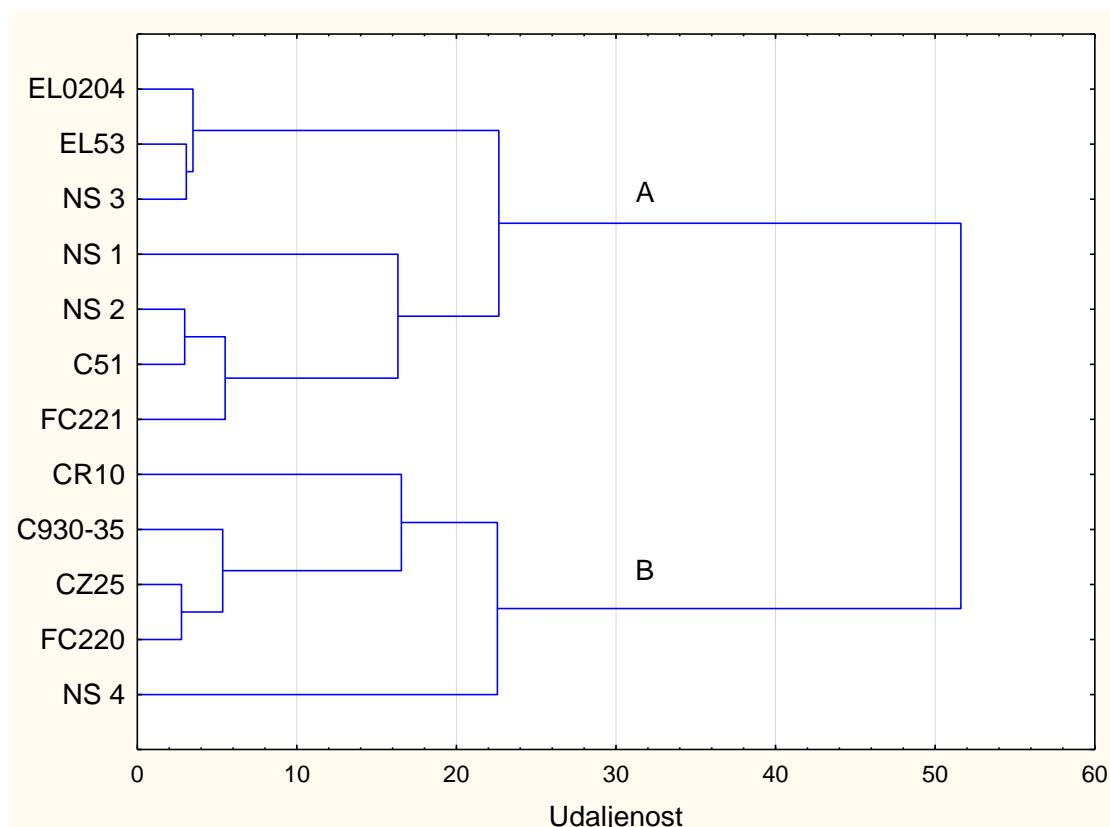
**h** – pozitivan heterozis; **d** – dominacija boljeg roditelja

Kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja masa korena se kretala od  $\bar{X} = 643$ g kod kombinacije NS4xcms1, do  $\bar{X} = 894$ g, kod kombinacije

CR10xcm2. U drugoj godini istraživanja masa korena se kretala od  $\bar{X} = 332,2\text{g}$  kod kombinacije NS4xcm2, do  $\bar{X} = 481,4\text{g}$  kod kombinacije FC220xcm2. Prosečna masa korena hibrida u 2011. godini je bila veća za 343,4g u odnosu na prosek u 2012. godini. Koeficijent varijacije kod hibridnih kombinacija se kreće od V=3,19% do V=24,50%. Prosečna vrednost koeficijenta varijacije kod hibridnih kombinacija u odnosu na oprašivače je bila niža u proseku za obe godine istraživanja za 2,93% (tab.8).

U 2011. godini efekat heterozisa se ispoljio kod svih kombinacija gde su oprašivači bili inbred linije, dok u 2012. nije došlo do superdominacije kod kombinacija u kojima je oprašivač bio CZ25. Puna dominacija boljeg roditelja se ispoljila kao način nasleđivanja kod kombinacija gde su oprašivači bili populacije slobodne oplodnje u obe godine istraživanja (tab. 8).

Na osnovu podataka o izmerenoj masi korena i pokazatelja varijabilnosti ispitivanih oprašivača šećerne repe, konstruisan je dendrogram, prema kom su oprašivači, na prvom nivou, podeljeni u dve grupe (graf. 1).



Grafikon 1. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprašivača šećerne repe za masu korena

Grupa A je bila sastavljena od oprašivača koji su posedovali gene autosterilnosti, kod kojih je masa korena ( $\bar{X} = 619,5\text{g}$ ) bila veća od proseka u 2011. godini i koji su imali veću vrednost koeficijenta varijacije (2011,  $\bar{V} = 15,19\%$ ; 2012,  $\bar{V} = 13,62\%$ ) (tab.8).

Grupu B su činili svi oprašivači koji su posedovali gene autofertilnosti, koji su imali manji koeficijent varijacije (2011,  $\bar{V} = 8,56\%$ ; 2012,  $\bar{V} = 8,88\%$ ). Njima se nadrugomnivou hijerarhije priključio jedan autosterilni oprašivač (NS4) iz kolekcije Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, zbog izuzetno malog koeficijenta varijacije u 2012. godini koji je iznosio  $V=3,83\%$  (tab. 8).

### 6.1.2. Masa glave korena

Najveću masu glave korena kod oprašivača u 2011.godini imao je oprašivač NS1  $\bar{X} = 94,6\text{g}$ , a u 2012. godini oprašivač EL0204  $\bar{X} = 70,9\text{g}$ . U obe godine istraživanja najmanju masu glave korena imao je oprašivač CR10 (2011,  $\bar{X} = 42,8\text{g}$ ; 2012,  $\bar{X} = 28,5\text{g}$ ). Koeficijent varijacije za ovo svojstvo je bio veći u poređenju sa koeficijentom varijacije za masu korena i kretao se od  $V=8,94\%$  do  $38,36\%$  kod populacija slobodne oplodnje, odnosno od  $V=3,25\%$  do  $V=25,85\%$  kod oprašivača koji su posedovali gene autofertilnosti. Suša tokom 2012. godine je uticala i na ovo svojstvo smanjenjem izmerene mase glave korena, tako da je u proseku ona bila manja za 27g, odnosno za trećinu manje od one izmerene u 2011. godini(tab. 9).

Testom najmanje značajne razlike utvrđene su značajne razlike između ispitivanih oprašivača, ali manje nego razlike izmerene za masu korena. U obe godine istraživanja izdvojio se oprašivač CR10, koji je imao značajno manju masu glave korena u poređenju sa ostalim oprašivačima.

Masa glave korena kod testera je bila značajnomanja u drugoj godini istraživanja, s tim da je druga linija reagovala na sušu većim smanjenjem. Kao i kod mase korena, s obzirom da su u pitanju citoplazmatski muški sterilne linije, koeficijent varijacije je bio manji u poređenju sa ispitivanim oprašivačima i kretao se od  $V=5,52\%$  do  $V=11,38\%$  (tab.9).

Tabela 9. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F1 hibrida za masu glave korena (g) šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	93,5±4,80	28,11
	2012	70,9±2,15	16,60
EL53	2011	86,7±1,42	8,94
	2012	53,1±1,51	15,60
NS 1	2011	94,6±6,30	36,44
	2012	54,2±2,06	20,78
NS 2	2011	78,9±1,67	11,59
	2012	45,8±1,17	13,97
NS 3	2011	68,8±2,02	16,09
	2012	45,2±0,67	8,14
C51	2011	87,6±2,29	14,30
	2012	62,4±1,84	16,15
CR10	2011	42,8±2,02	25,85
	2012	28,5±0,89	17,17
C930-35	2011	69,6±0,41	3,25
	2012	60,8±1,62	14,62
CZ25	2011	88,3±1,95	12,08
	2012	48,3±3,50	7,32
NS 4	2011	64,2±1,62	13,86
	2012	45,2±1,38	16,69
FC221	2011	79,0±4,44	30,80
	2012	55,3±3,87	38,36
FC220	2011	90,3±2,35	14,26
	2012	50,6±1,76	19,06
Prosek	2011	78,7	17,96
	2012	51,7	17,04
NZR 0,05	2011	20,61	
	2012	16,53	
NZR 0,01	2011	28,01	
	2012	22,46	
cms 1	2011	60,3±0,61	5,52
	2012	44,1±0,92	11,38
cms 2	2011	78,4±1,25	8,74
	2012	38,6±0,63	8,98
EL0204xcms1	2011	108,5±7,91	39,92
	2012	75,1±1,76 d	12,84
EL0204xcms2	2011	90,8±3,54	21,37
	2012	68,8±1,08 d	8,59
EL53xcms1	2011	77,3±0,83 d	5,87
	2012	58,0±0,76 d	7,17
EL53xcms2	2011	102,6±0,56 h	2,98
	2012	50,5±0,93 d	10,07
NS1xcms1	2011	85,8±1,27 d	8,13
	2012	60,2±2,00	18,19

Nastavak tab. 9.

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
NS1xcms2	2011	92,7±1,01 d	5,94
	2012	66,9±1,10 d	9,04
NS2xcms1	2011	99,6±2,01 d	11,07
	2012	61,1±0,89 h	7,95
NS2xcms2	2011	118,1±1,57 h	7,28
	2012	57,5±0,62 h	5,88
NS3xcms1	2011	79,1±3,58	24,77
	2012	60,3±2,22	20,20
NS3xcms2	2011	97,7±4,23	23,74
	2012	55,0±2,00	19,89
C51xcms1	2011	108,3±4,35 d	22,02
	2012	64,7±0,93 d	7,90
C51xcms2	2011	88,0±2,85	17,78
	2012	58,4±0,65 d	6,45
CR10xcms1	2011	116,0±1,11 h	5,25
	2012	59,6±0,83 h	7,67
CR10xcms2	2011	127,7±3,84 h	16,47
	2012	50,0±1,47 d	16,06
C930-35xcms1	2011	88,5±2,94 d	18,17
	2012	57,8±1,65	15,61
C930-35xcms2	2011	111,0±2,48 h	12,26
	2012	66,8±1,09 d	8,93
CZ25xcms1	2011	145,6±9,63 d	36,20
	2012	67,7±2,17 d	17,56
CZ25xcms2	2011	104,1±2,69 d	14,15
	2012	60,3±1,77 d	16,08
NS4xcms1	2011	78,9±2,45	17,02
	2012	64,3±1,91 d	16,29
NS4xcms2	2011	131,1±0,89 h	3,72
	2012	49,8±0,55 d	6,00
FC221xcms1	2011	82,1±2,94	19,62
	2012	76,6±2,41 d	17,23
FC221xcms2	2011	89,8±2,11	12,87
	2012	54,6±0,57 d	5,71
FC220xcms1	2011	102,8±3,62 d	19,29
	2012	72,1±0,95 h	7,19
FC220xcms2	2011	123,2±1,68 h	7,47
	2012	70,0±1,93 h	15,09
Prosek	2011	102,1	15,56
	2012	61,9	11,81

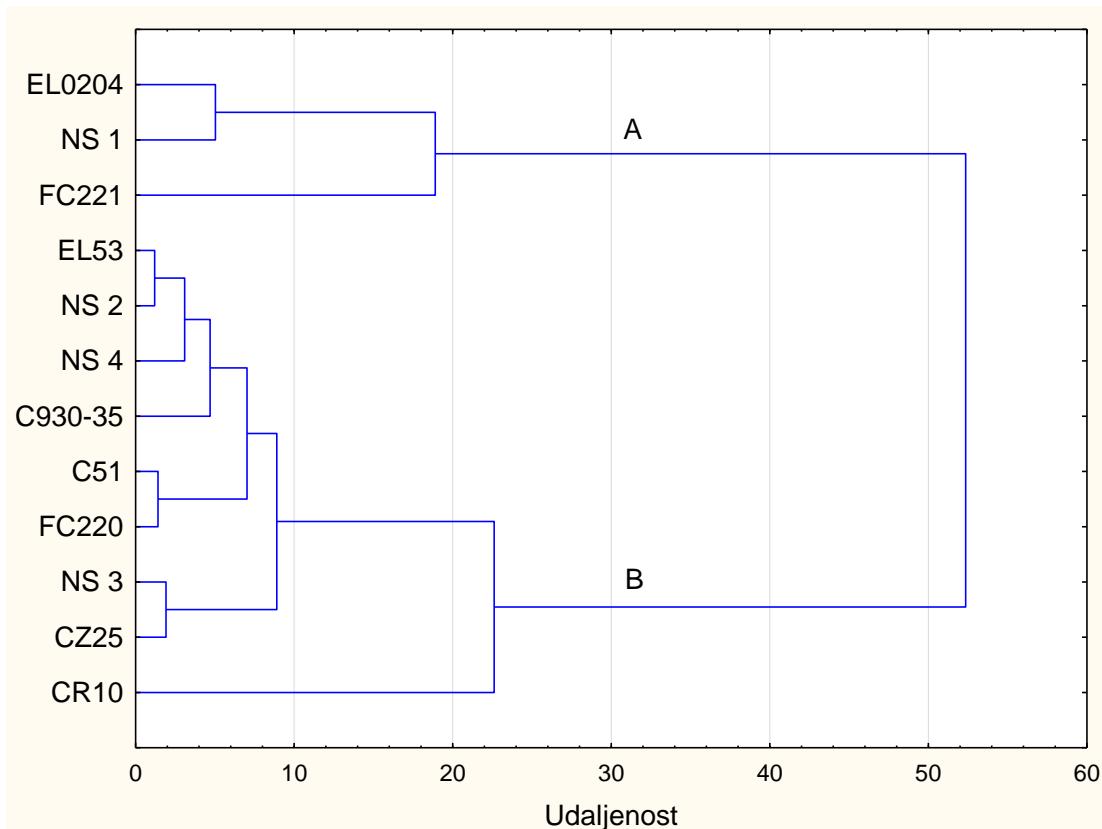
**h** – pozitivan heterozis; **d** – dominacija boljeg roditelja

Masa glave korena kod hibridnih kombinacija u 2011.godini se kretala od  $\bar{X} = 77,3\text{g}$  kod kombinacije EL53xcms1, do  $\bar{X} = 145,6\text{g}$  kod kombinacije CZ25xcms1.

U 2012. godini masa glave korena se kretala od  $\bar{X}=49,8\text{g}$  kod hibridne kombinacije NS4xcm2, do  $\bar{X}=76,6\text{g}$  kod hibridne kombinacije FC221xcm1. Prosečna masa glave korena u drugoj godini istraživanja bila je manja za 40g u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo se kod hibridnih kombinacija kretao od  $V=2,98\%$  do  $V=39,92\%$ . Prosečna vrednost koeficijenta varijacije kod hibridnih kombinacija u odnosu na opršivače je bila niža u proseku za obe godine istraživanja za 3,81% (tab. 9).

U nasleđivanju mase glave korena ispoljio se heterozis efekat i dominacija boljeg roditelja. Kod pojedinih hibridnih kombinacija gde su opršivači bili populacije slobodne oplodnje način nasleđivanja se nije mogao odrediti. Zbog toga što su zabeležene visoke vrednosti pokazatelja varijabilnosti, kako kod roditeljskih komponenti, tako i kod hibrida, rezultati t-testa nisu bili značajni (tab. 9).

Kao i kod mase korena, prilikom konstruisanja dendrograma fenotipskih razlika za masu glave korena, opršivači su se podelili u dve grupe. Prema grupisanju genotipova, ovaj put nije bilo moguće da se jasno razdvoje autosterilne od autofertilnih genotipova, jer i razlike između njih u pogledu ovog svojstva nisu bile tako izražene kao kod mase korena (graf. 2).



## Grafikon 2. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprašivača šećerne repe za masu glave korena

Prvu grupu, grupu A, činili su tri oprašivača koji su posedovali gene autosterilnosti, ali su se izdvojila od ostalih oprašivača zbog visokog koeficijenta varijacije u obe godine istraživanja (2011,  $\bar{V}=31,78\%$ ; 2012,  $\bar{V}=25,25\%$ )(tab. 9).

Drugu grupu su činili ostali oprašivači, podeljeni u nekoliko podgrupa nezavisno od prisustva gena autofertilnosti i autosterilnosti. Drugoj grupi se na najvišem nivou hijerarhije priključio oprašivač CR10, koji se izdvojio od svih ostalih zbog male mase glave korena u obe godine istraživanja (tab. 9).

### 6.1.3. Obim korena

Najveći obim korena u obe godine istraživanja imao je oprašivač EL0204(2011,  $\bar{X}=31,2\text{cm}$ ; 2012,  $\bar{X}=24,6\text{cm}$ ) dok je najmanji obim korena zabeležen kod oprašivača CR10 (2011,  $\bar{X}=23,0\text{cm}$ ; 2012,  $\bar{X}=18,5\text{cm}$ ). Sudeći prema koeficijentu varijacije, ovo svojstvo je bilo fenotipski uniformnije nego masa korena i masa glave korena.I u ovom slučaju, postoje razlike u vrednostima koeficijenata varijacije kod oprašivača koji poseduju gen autosterilnosti u poređenju sa onima koji poseduju gen autofertilnosti. Kod prve grupe oprašivača, koeficijent varijacije se kreće od  $V=1,36\%$  do  $V=9,70\%$ , a kod druge grupe od  $V=1,56\%$  do  $V=5,17\%$  (tab. 10).

Posmatrajući proseke po godinama u kojima je vršeno ispitivanje, vidiseda je obim korena kod ispitivanih oprašivača bio manji u proseku za 5,7 cm u 2012. godini( $\bar{X}=22,4\text{cm}$ ) u odnosu na 2011. godinu ( $\bar{X}=28,1\text{cm}$ )(tab. 8).

Testom najmanje značajne razlike utvrđeno je postojanje značajnih razlika između ispitivanih oprašivača u obe godine istraživanja.Ipak zbog izrazite suše u 2012.godini i manje varijabilnosti obima korena u takvim uslovima, razlike između oprašivača su bile manje.

Slično kao i kod mase glave korena, obim korena kod testera je bio manji u drugoj godini istraživanja (2011,  $\bar{X}=27,6\text{cm}$ ; 2012,  $\bar{X}=20,95\text{cm}$ ), s tim da je druga linija reagovala na sušu većim smanjenjem prosečne vrednosti ovog svojstva. Kao i

kod prethodna dva ispitivana svojstva, s obzirom da su u pitanju citoplazmatičnomuški sterilne linije, koeficijent varijacije je bio manji u poređenju sa ispitivanim opašivačima i kretao se od V=1,70% do V=3,50% (tab. 10).

Tabela 10. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F<sub>1</sub> hibrida za obim korena (cm) šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x^-$	V
EL0204	2011	31,2±0,32	5,57
	2012	24,6±0,07	1,47
EL53	2011	29,8±0,07	1,36
	2012	23,3±0,24	5,65
NS 1	2011	28,1±0,41	8,06
	2012	21,3±0,22	5,63
NS 2	2011	28,4±0,19	3,72
	2012	22,7±0,20	4,89
NS 3	2011	28,0±0,29	5,57
	2012	23,3±0,15	3,48
C51	2011	29,3±0,17	3,14
	2012	23,3±0,24	5,60
CR10	2011	23,0±0,11	2,63
	2012	18,5±0,17	5,17
C930-35	2011	28,8±0,20	3,86
	2012	24,0±0,20	4,67
CZ25	2011	30,4±0,20	3,57
	2012	22,3±0,14	3,33
NS 4	2011	24,9±0,32	6,95
	2012	22,1±0,08	2,08
FC221	2011	27,7±0,26	5,12
	2012	21,5±0,38	9,70
FC220	2011	27,1±0,08	1,56
	2012	22,4±0,09	2,29
Prosek	2011	28,1	4,26
	2012	22,4	4,50
NZR 0,05	2011	1,86	
	2012	1,64	
NZR 0,01	2011	2,53	
	2012	2,23	
cms 1	2011	25,9±0,17	3,50
	2012	21,3±0,10	2,53
cms 2	2011	29,3±0,14	2,59
	2012	20,6±0,06	1,70
EL0204x cms 1	2011	31,9±0,51 d	8,77
	2012	27,0±0,19 h	3,83
EL0204x cms 2	2011	31,6±0,31	5,42
	2012	25,7±0,14 d	3,02
EL53x cms 1	2011	29,4±0,15 d	2,82
	2012	24,9±0,21 d	4,52

EL53xcm2	2011	$32,2 \pm 0,30$ d	5,03
	2012	$23,4 \pm 0,15$ d	3,47
NS1xcm2	2011	$29,8 \pm 0,18$ d	3,26
	2012	$24,1 \pm 0,24$ d	5,43

Nastavak tab. 10.

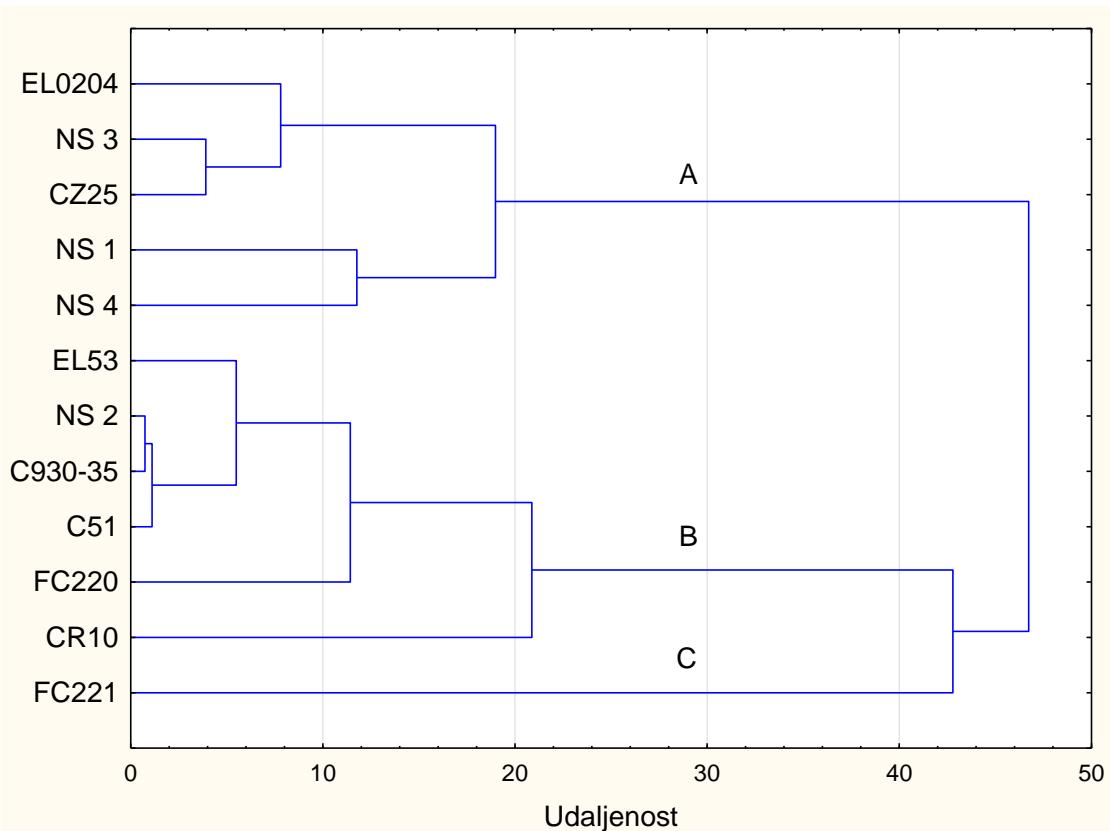
Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_{\bar{x}}$	V
NS1xcm2	2011	$30,9 \pm 0,14$	2,48
	2012	$25,8 \pm 0,14$ h	2,94
NS2xcm2	2011	$31,7 \pm 0,21$ h	3,59
	2012	$25,3 \pm 0,10$ h	2,11
NS2xcm2	2011	$33,3 \pm 0,13$ h	2,08
	2012	$25,3 \pm 0,05$ h	1,09
NS3xcm2	2011	$30,1 \pm 0,61$	11,14
	2012	$25,2 \pm 0,28$ d	6,05
NS3xcm2	2011	$32,2 \pm 0,37$ d	6,27
	2012	$25,1 \pm 0,23$ d	4,97
C51xcm2	2011	$31,7 \pm 0,23$ d	3,92
	2012	$25,4 \pm 0,13$ d	2,85
C51xcm2	2011	$31,0 \pm 0,17$ d	3,02
	2012	$24,0 \pm 0,22$ d	5,00
CR10xcm2	2011	$33,2 \pm 0,27$ h	4,48
	2012	$25,4 \pm 0,11$ h	2,47
CR10xcm2	2011	$34,1 \pm 0,33$ h	5,31
	2012	$24,9 \pm 0,13$ h	2,92
C930-35xcm2	2011	$29,7 \pm 0,06$ d	1,13
	2012	$24,6 \pm 0,26$ d	5,68
C930-35xcm2	2011	$32,2 \pm 0,40$	6,86
	2012	$25,7 \pm 0,05$ d	0,98
CZ25xcm2	2011	$33,5 \pm 0,22$ h	3,67
	2012	$25,9 \pm 0,21$ h	4,39
CZ25xcm2	2011	$33,8 \pm 0,09$ h	1,45
	2012	$25,0 \pm 0,21$ h	4,68
NS4xcm2	2011	$29,0 \pm 0,16$ h	3,00
	2012	$24,8 \pm 0,17$ h	3,81
NS4xcm2	2011	$31,8 \pm 0,18$ h	3,12
	2012	$22,9 \pm 0,07$ d	1,65
FC221xcm2	2011	$30,9 \pm 0,06$ h	1,09
	2012	$26,7 \pm 0,34$ h	7,04
FC221xcm2	2011	$31,1 \pm 0,22$ d	3,82
	2012	$24,2 \pm 0,17$ d	3,78
FC220xcm2	2011	$31,3 \pm 0,15$ h	2,55
	2012	$26,0 \pm 0,23$ h	4,92
FC220xcm2	2011	$32,8 \pm 0,16$ h	2,74
	2012	$25,7 \pm 0,30$ h	6,39
Prosek	2011	31,6	4,04
	2012	25,1	3,92

**h** – pozitivan heterozis; **d** – dominacija boljeg roditelja

Obim korena kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja se kretao od  $\bar{X} = 29,0\text{cm}$  kod kombinacije NS4xcms1, do  $\bar{X} = 34,1\text{cm}$  kod kombinacije CR10xcms2. U drugoj godini istraživanja obim korena se kretao od  $\bar{X} = 22,9\text{cm}$  kod hibridne kombinacije NS4xcms2, do  $\bar{X} = 27,0\text{cm}$  kod hibridne kombinacije EL0204xcms1. Prosečna vrednost obima korena u drugoj godini istraživanja bila je manja za 6,5cm u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo se kod hibridnih kombinacija kretao od  $V=0,98\%$  do  $V=11,14\%$ . Prosečna vrednost koeficijenta varijacije kod hibridnih kombinacija u odnosu na opršivače je bila niža u prosjeku za obe godine istraživanja za 0,9% (tab. 10).

U načinu nasleđivanja kao i kod mase korena i mase glave korena ispoljio se efekat heterozisa i dominacija boljeg roditelja (tab. 10).

Na osnovu rezultata merenja obima korena, opršivači su se podelili u dve grupe. Glavni kriterijum grupisanja kod ovog svojstva je bio koeficijent varijacije. Grupu A su činili opršivači kod kojih je ovaj koeficijent bio veći u 2011. godini ( $\bar{V} = 5,94\%$ ), u poređenju sa 2012. godinom ( $\bar{V} = 3,20\%$ ), a grupu B opršivači kod kojih je koeficijent varijacije bio veći u 2012. godini ( $\bar{V} = 4,71\%$ ), u poređenju sa 2011. godinom ( $\bar{V} = 2,71\%$ ). Drugoj grupi se na najvišem nivou priključio opršivač FC221, koji je imao najveći koeficijent varijacije u 2012. godini ( $V=9,70\%$ ) (graf. 3; tab. 10).



Grafikon 3. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprasivača šećerne repe za obim korena

#### 6.1.4. Sadržaj šećera

U prvoj godini istraživanja najveći sadržaj šećera je imao oprasivač NS4 i iznosio je  $\bar{X} = 18,43\%$ , a najniži je imao oprasivač CR10 koji je iznosio  $\bar{X} = 14,25\%$ . U 2012.godini je ponovo oprasivač NS4 imao najveću vrednost sadržaja šećera od  $\bar{X} = 19,51\%$ , dok je najnižu vrednost imao oprasivač C930-35 od  $\bar{X} = 17,74\%$ . Koeficijent varijacije je kod autosterilnih oprasivača varirao od  $V=1,79\%$  do  $V=11,82\%$ , a kod autofertilnih od  $V=1,68\%$  do  $V=7,54\%$  (tab. 11).

Izuzetna suša u 2012.godini, je dovela do smanjenja srednjih vrednosti svih do sada navedenih ispitivanih svojstava. Nasuprot tome prosečan sadržaj šećera kod oprasivača je bio veći u 2012. godini, u odnosu na 2011. godinu za  $\bar{X} = 1,79\%$  (tab. 11).

Linije testeri su se slično ponašale kao i oprasivači, reakcija na sušu je bila povećanje sadržaja šećera za oko jedan procenat u proseku. Koeficijent varijacije

kod linija testera je bio manji nego kod linija oprasivača i kretao se od V=3,55% do V=5,50% (tab. 11).

Sadržaj šećera kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja se kretao od  $\bar{X} = 14,73\%$  kod kombinacije NS3xcms1, do  $\bar{X} = 18,95\%$  kod kombinacije FC221xcms1. U drugoj godini istraživanja sadržaj šećera se kretao od  $\bar{X} = 16,88\%$  kod hibridne kombinacije EL53xcms2, do  $\bar{X} = 19,83\%$  kod hibridne kombinacije CZ25xcms2. Prosečna vrednost sadržaja šećera u drugoj godini istraživanja bila je veća za 1,98% u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije kod hibridnih kombinacija se kretao od V=0,98% do V=17,31% (tab. 11).

Način nasleđivanja sadržaja šećera određen je samo kod nekoliko hibridnih kombinacija, zbog malih razlika u vrednostima sadržaja šećera pojedinih roditelja. Kod ovog svojstva nije došlo do ispoljavanja heterozisa, kao kod predhodno navedenih svojstava. U prvoj godini istraživanja dominacija boljeg roditelja se ispoljila kod dve hibridne kombinacije (NS1xcms2, CR10xcms1), kao i dominacija slabijeg roditelja (EL53xcms2, NS3xcms1). Samo kod hibridne kombinacije CR10xcms2 ispoljio se intermediaran način nasleđivanja. U 2012. godini kao način nasleđivanja sadržaja šećera zabeležena je samo dominacija boljeg roditelja (tab.11).

Tabela 11. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F<sub>1</sub> hibrida za sadržaj šećera (%) kod šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	17,01±0,37	11,82
	2012	18,24±0,18	5,53
EL53	2011	16,89±0,14	4,50
	2012	17,81±0,07	2,20
NS 1	2011	16,57±0,09	3,08
	2012	19,56±0,07	2,00
NS 2	2011	16,80±0,27	8,82
	2012	19,39±0,07	1,97
NS 3	2011	17,24±0,16	4,95
	2012	19,34±0,18	5,20
C51	2011	16,47±0,19	6,27
	2012	18,25±0,17	5,19
CR10	2011	14,25±0,18	7,11
	2012	17,74±0,05	1,68
C930-35	2011	17,11±0,24	7,54
	2012	17,54±0,09	2,86
CZ25	2011	18,11±0,18	5,53

	2012	19,21±0,17	4,83
NS 4	2011	18,43±0,19	5,51
	2012	19,51±0,13	3,53
FC221	2011	15,65±0,05	1,79
	2012	17,99±0,15	4,69
FC220	2011	17,75±0,14	4,36
	2012	19,25±0,10	2,81
Prosek	2011	16,86	5,94
	2012	18,65	3,54
NZR 0,05	2011	1,897	
	2012	1,177	
NZR 0,01	2011	2,578	
	2012	1,600	
cms 1	2011	17,78±0,12	3,55
	2012	18,55±0,19	5,50
cms 2	2011	18,66±0,16	4,64
	2012	19,70±0,18	5,09
EL0204xcms1	2011	17,55±0,16	4,99
	2012	18,89±0,13	3,85
EL0204xcms2	2011	17,52±0,13	4,00
	2012	18,89±0,09	2,72
EL53xcms1	2011	17,05±0,03	0,98
	2012	19,24±0,04	2,14
EL53xcms2	2011	16,37±0,19 d-	6,44
	2012	16,88±0,07	1,20
NS1xcms1	2011	17,38±0,33	10,25
	2012	18,92±0,06	5,93

Nastavak tab. 11.

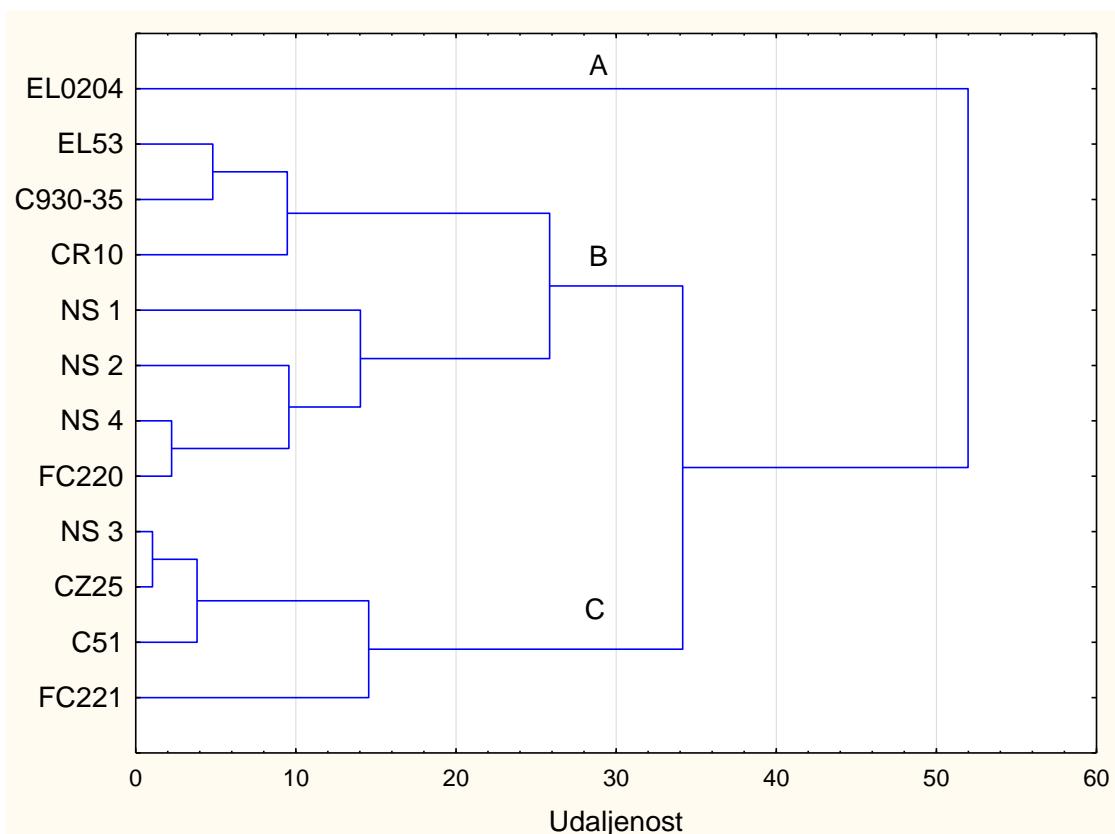
Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x^-$	V
NS1xcms2	2011	18,61±0,04 d	1,13
	2012	18,39±0,20	1,68
NS2xcms1	2011	15,95±0,50	17,31
	2012	18,69±0,11	4,43
NS2xcms2	2011	17,02±0,23	7,43
	2012	19,12±0,15	3,09
NS3xcms1	2011	14,73±0,28 d-	10,56
	2012	19,46±0,10	2,74
NS3xcms2	2011	16,07±0,30	10,25
	2012	19,65±0,06	1,76
C51xcms1	2011	15,83±0,22	7,46
	2012	19,02±0,07	1,90
C51xcms2	2011	16,83±0,24	7,71
	2012	19,27±0,21	5,95
CR10xcms1	2011	16,99±0,18 d	5,93
	2012	18,59±0,08 d	2,81
CR10xcms2	2011	15,84±0,04 i	1,26
	2012	18,51±0,09 d	2,21
C930-35xcms1	2011	17,35±0,16	5,03

	2012	$19,15 \pm 0,10 \text{ d}$	3,02
C930-35xcms2	2011	$16,36 \pm 0,40$	13,47
	2012	$18,75 \pm 0,10 \text{ d}$	2,95
CZ25xcms1	2011	$16,25 \pm 0,16$	5,26
	2012	$19,16 \pm 0,15$	4,16
CZ25xcms2	2011	$17,25 \pm 0,30$	9,44
	2012	$19,83 \pm 0,11$	3,06
NS4xcms1	2011	$17,21 \pm 0,25$	7,99
	2012	$19,07 \pm 0,12$	3,59
NS4xcms2	2011	$18,13 \pm 0,15$	4,39
	2012	$19,82 \pm 0,13$	3,61
FC221xcms1	2011	$18,95 \pm 0,07$	2,01
	2012	$19,59 \pm 0,12$	6,49
FC221xcms2	2011	$16,96 \pm 0,22$	6,95
	2012	$18,05 \pm 0,21$	3,32
FC220xcms1	2011	$17,29 \pm 0,10$	3,23
	2012	$18,95 \pm 0,13$	3,66
FC220xcms2	2011	$17,96 \pm 0,08$	2,43
	2012	$18,99 \pm 0,23$	6,55
Prosek	2011	16,98	6,50
	2012	18,95	3,45

**d** – dominacija boljeg roditelja; **d'** – dominacija slabijeg roditelja;

**i** – intermedijarnost

Na osnovu rezultata merenja sadržaja šećera oprašivači su se podelili u tri grupe. Posebno se izdvojio oprašivač EL0204, zbog najvećeg koeficijenta varijacije u obe godine istraživanja ( $\bar{V} = 8,68\%$ ). Grupu B su formirali oprašivači koji su imali manji koeficijent varijacije ( $\bar{V} = 4,14\%$ ) i imala je dve podgrupe. Prvu podgrupu u kojoj su bili oprašivači sa nižim sadržajem šećera ( $\bar{X} = 16,89\%$ ) i drugu koju su činili oprašivači sa višim sadržajem šećera ( $\bar{X} = 18,41\%$ ). Grupa C je formirana od oprašivača sa većim koeficijentom varijacije ( $\bar{V} = 4,81\%$ ) (graf. 4).



Grafikon 4. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprašivača šećerne repe za sadržaj šećera

#### 6.1.5. Sadržaj suve materije

Kao i kod sadržaja šećera najveću srednju vrednost sadržaja suve materije u prvoj godini istraživanja imao je oprašivač NS4 od  $\bar{X} = 25,91\%$ , a najmanju oprašivač CR10 od  $\bar{X} = 20,72\%$ . U drugoj godini istraživanja opet je NS4 imao najveću prosečnu vrednost od  $\bar{X} = 27,57\%$ , dok je ovaj put najmanju prosečnu

vrednost imao opršivač EL53 od  $\bar{X} = 23,23\%$ . Kao i kod prethodnih svojstava i za sadržaj suve materije koeficijent varijacije kod autosterilnih opršivača je bio veći u poređenju sa opršivačima koji su posedovali gene autofertilnosti i kretao se od  $V=2,50\%$  do  $V=10,04\%$ . Kod autofertilnih opršivača koeficijent varijacije je bio u rasponu od  $V=1,20\%$  do  $V=8,52\%$ . Prosečno povećanje sadržaja suve materije u 2012.godini u poređenju sa 2011. godinom je iznosilo 1,77% (tab. 12).

Testeri su se slično ponašali kao i opršivači. Reakcija na sušu je bila povećanje sadržaja suve materije, s tim što je to povećanje bilo za dva procenta veće kod druge citoplazmatične linije (cms2). Jedino kod ovog svojstva je zabeležen veći koeficijent varijacije kod testera u odnosu na koeficijent varijacije kod opršivača i kretao se od  $V=2,48\%$  do  $V=11,85\%$ .(tab. 12).

Sadržaj suve materije kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja se kretao od  $\bar{X} = 21,31\%$  kod kombinacije NS3xcms1, do  $\bar{X} = 25,57\%$  kod kombinacije FC221xcms1. U drugoj godini istraživanja sadržaj šećera se kretao od  $\bar{X} = 22,76\%$  kod hibridne kombinacije EL53xcms2, do  $\bar{X} = 26,26\%$  kod hibridne kombinacije CZ25xcms2. Prosečna vrednost sadržaja šećera u drugoj godini istraživanja bila je veća za 1,66% u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo se kod hibridnih kombinacija kretao od  $V=0,51\%$  do  $V=15,48\%$ . Prosečna vrednost koeficijenta varijacije kod hibridnih kombinacija u odnosu na opršivače je bila niža u proseku za obe godine istraživanja za 0,51% (tab. 12).

Način nasleđivanja sadržaja suve materije je, kao i u slučaju nasleđivanja sadržaja šećera, određen samo kod nekoliko hibridnih kombinacija, zbog malih razlika u vrednostima sadržaja suve materije pojedinih roditelja. Kod ovog svojstva nije došlo do ispoljavanja pozitivnog heterozisa, ali se kod kombinacije NS1xcms2 ispoljio negativan heterozis u drugoj godini istraživanja. U prvoj godini istraživanja dominacija boljeg roditelja se ispoljila samo kod hibridne kombinacije CR10xcms1, a kod hibridne kombinacije CR10xcms2 ispoljio se intermedijaran način nasleđivanja. U 2012.godini pored negativnog heterozisa, kao način nasleđivanja sadržaja suve materije zabeleženi su dominacija slabijeg roditelja kod četiri hibridne kombinacije (EL0204xcms2, EL53xcms2, CR10xcms1, FC221xcms2) i intermedijaran način nasleđivanja kod hibridne kombinacije CR10xcms2 (tab.12).

Tabela 12. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F1 hibrida za sadržaj suve materije (%) šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	22,79±0,42	10,04
	2012	24,27±0,28	6,40
EL53	2011	22,44±0,15	3,50
	2012	23,23±0,11	2,50
NS 1	2011	23,36±0,19	4,38
	2012	26,20±0,13	2,82
NS 2	2011	23,57±0,19	4,45
	2012	26,36±0,18	3,76
NS 3	2011	23,57±0,25	5,73
	2012	26,41±0,13	2,71
C51	2011	22,87±0,31	7,41
	2012	24,23±0,25	5,66
CR10	2011	20,72±0,05	1,20
	2012	23,57±0,05	1,24
C930-35	2011	23,62±0,27	6,33
	2012	24,45±0,24	5,27
CZ25	2011	25,24±0,39	8,52
	2012	26,52±0,15	3,07
NS 4	2011	25,91±0,32	6,87
	2012	27,57±0,22	4,41
FC221	2011	23,53±0,22	5,13
	2012	23,90±0,24	5,53
FC220	2011	23,61±0,21	4,79
	2012	25,89±0,11	2,37
Prosek	2011	23,44	5,70
	2012	25,21	3,81
NZR 0,05	2011	2,577	
	2012	1,670	
NZR 0,01	2011	3,503	
	2012	2,270	
cms 1	2011	25,05±0,54	11,85
	2012	25,47±0,12	2,48
cms 2	2011	24,57±0,33	7,35
	2012	27,00±0,17	3,45
EL0204xcms1	2011	23,15±0,20	4,76
	2012	24,49±0,22	4,89
EL0204xcms2	2011	23,33±0,25	5,82
	2012	25,04±0,19 d	4,12
EL53xcms1	2011	23,01±0,08	1,88
	2012	24,88±0,05 i	0,51
EL53xcms2	2011	24,09±0,27	6,16
	2012	22,76±0,02 d	0,99
NS1xcms1	2011	24,26±0,47	10,57
	2012	24,10±0,26	6,01

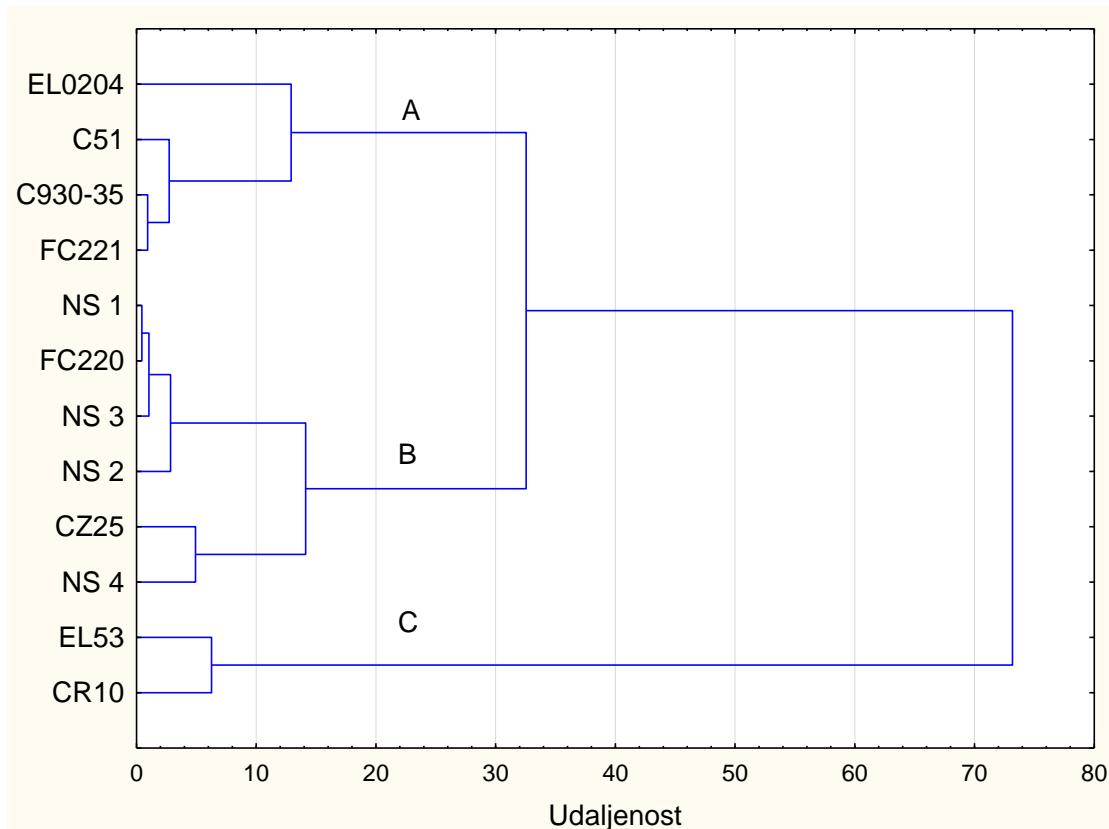
Nastavak tab. 12.

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
NS1xcms2	2011	24,71±0,10	2,31
	2012	24,75±0,07 h-	1,61
NS2xcms1	2011	22,72±0,31	7,38
	2012	25,43±0,07	1,58
NS2xcms2	2011	23,63±0,12	2,77
	2012	25,27±0,26	5,68
NS3xcms1	2011	21,31±0,16	4,19
	2012	25,46±0,21	4,44
NS3xcms2	2011	22,25±0,38	9,31
	2012	25,81±0,10	2,02
C51xcms1	2011	22,17±0,14	3,48
	2012	25,26±0,20	4,31
C51xcms2	2011	23,13±0,23	5,42
	2012	24,77±0,30	6,63
CR10xcms1	2011	22,96±0,05 d	1,13
	2012	24,04±0,09 d-	2,09
CR10xcms2	2011	21,93±0,07 i	1,80
	2012	24,53±0,04 i	0,88
C930-35xcms1	2011	23,82±0,39	9,07
	2012	25,82±0,21	4,65
C930-35xcms2	2011	22,59±0,64	15,48
	2012	24,82±0,18	3,72
CZ25xcms1	2011	22,23±0,11	2,71
	2012	25,10±0,17	3,63
CZ25xcms2	2011	23,23±0,25	5,97
	2012	26,26±0,04	0,81
NS4xcms1	2011	24,49±0,23	5,07
	2012	25,29±0,15	3,29
NS4xcms2	2011	25,03±0,20	4,28
	2012	26,04±0,19	4,10
FC221xcms1	2011	25,57±0,21	4,60
	2012	25,58±0,10	2,70
FC221xcms2	2011	21,63±0,49	12,33
	2012	23,63±0,12 d-	2,20
FC220xcms1	2011	24,19±0,11	2,57
	2012	25,44±0,04	0,79
FC220xcms2	2011	24,63±0,05	1,18
	2012	25,49±0,10	2,16
Prosek	2011	23,34	5,43
	2012	25,00	3,08

d – dominacija boljeg roditelja; d- – dominacija slabijeg roditelja;

h- – negativan heterozis; i – intermedijarnost

Na osnovu podataka o izmerenom sadržaju suve materije i pokazatelja varijabilnosti ispitivanih oprašivača šećerne repe, konstruisan je dendrogram, gde su oprašivači podeljeni u tri grupe. Grupu A su činili oprašivači koji su imali veći koeficijent varijacije ( $\bar{V} = 6,47\%$ ) i manji sadržaj suve materije u obe godine istraživanja ( $\bar{X} = 23,71\%$ ). Drugu grupu su činili oprašivači koji su imali manji koeficijent varijacije ( $\bar{V} = 4,49\%$ ) i veći sadržaj suve materije ( $\bar{X} = 25,35$ ). Uovoj grupi su se našla sva četiri oprašivača kolekcije Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Posebnu grupu su formirali oprašivači EL53 i CR10. Ova dva oprašivača su imala najmanji sadržaj suve materije u obe godine istraživanja ( $\bar{X} = 22,49\%$ ), kao i mali koeficijent varijacije ( $\bar{V} = 2,11\%$ ) (graf. 5; tab. 12).



Grafikon 5. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprašivača šećerne repe za sadržaj suve materije

### **6.1.6. Iskorišćenje šećera**

S obzirom da se prilikom izračunavanja iskorišćenja šećera koriste svi pokazatelji kvaliteta korena šećerne repe, može da se kažeda je ovo svojstvo najznačajniji pokazatelj kvaliteta korena šećerne repe. Najveće iskorišćenje šećera u 2011.godini zabeleženo je kod oprašivača NS4  $\bar{X} = 15,61\%$ , a najmanje kod oprašivača CR10  $\bar{X} = 10,65\%$ . U drugoj godini istraživanja najveća vrednost iskorišćenja šećera je zabeležena kod oprašivača NS1  $\bar{X} = 17,61\%$ , a najmanja kod oprašivača C930-35  $\bar{X} = 15,40\%$ . Koeficijent varijacije se, kako kod oprašivača koji su posedovali gene autosterilnosti tako i kod onih koji su posedovali gene autofertilnosti kretao od oko  $V \approx 1\%$  do  $V \approx 12\%$ . Imajući u vidu izrazitu sušu tokom 2012.godine, prosečno povećanje iskorišćenja šećera kod oprašivača u odnosu na 2011. godinu je iznosilo 2,71% (tab. 13).

Testeri su se slično ponašali kao i oprašivači, reakcija na sušu je bila povećanje iskorišćenja šećera, s tim što je to povećanje bilo za procenat veće kod druge citoplazmatične linije. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo je manje varirao nego kod oprašivača i kretao se od  $V=6,24\%$  do  $V=7,68\%$  (tab. 13).

Iskorišćenje šećera kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja se kretalo od  $\bar{X} = 11,83\%$  kod kombinacije NS3xcms1, do  $\bar{X} = 16,37\%$  kod kombinacije FC221xcms1. U drugoj godini istraživanja vrednosti iskorišćenja šećera su se kretale od  $\bar{X} = 14,62\%$  kod hibridne kombinacije EL53xcms2, do  $\bar{X} = 17,82\%$  kod hibridne kombinacije CZ25xcms2. Prosečna vrednost iskorišćenja šećera u drugoj godini istraživanja bila je veća za 2,78% u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo se kod hibridnih kombinacija kretao od  $V=1,05\%$  do  $V=17,61\%$ (tab. 13).

Kao i kod predhodna dva svojstva, način nasleđivanja za iskorišćenje šećera je određen kod samo nekoliko hibridnih kombinacija.U prvoj godini istraživanja zabeleženi su puna dominacija boljeg roditelja (NS1xcms2, CR10xcms1, FC221xcms1), dominacija slabijeg roditelja (EL53xcms2, NS3xcms1), kao i intermedijaran način nasleđivanja (CR10xcms2).U drugoj godini istraživanja kod hibridnih kombinacija gde je određen način nasleđivanja, ispoljila

se puna dominacija boljeg roditelja (EL53xcms1, C930-35xcms2, FC221xcms1) (tab. 13).

Tabela 13. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F1 hibrida za iskorišćenje šećera (%) kod šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	14,03±0,32	12,58
	2012	15,97±0,21	7,17
EL53	2011	13,28±0,20	8,45
	2012	15,63±0,11	4,01
NS 1	2011	13,84±0,09	3,41
	2012	17,61±0,06	2,02
NS 2	2011	13,73±0,25	9,85
	2012	17,52±0,05	1,43
NS 3	2011	14,03±0,21	8,32
	2012	17,17±0,21	6,73
C51	2011	13,84±0,16	6,14
	2012	16,34±0,19	6,25
CR10	2011	10,65±0,24	12,14
	2012	15,64±0,06	2,16
C930-35	2011	14,43±0,26	9,88
	2012	15,40±0,13	4,56
CZ25	2011	15,32±0,24	8,55
	2012	17,27±0,16	5,02
NS 4	2011	15,61±0,14	5,06
	2012	17,46±0,12	3,83
FC221	2011	12,90±0,03	1,08
	2012	15,95±0,17	5,74
FC220	2011	15,03±0,10	3,79
	2012	17,27±0,15	4,72
Prosek	2011	13,89	7,44
	2012	16,60	4,47
NZR 0,05	2011	1,895	
	2012	1,294	
NZR 0,01	2011	2,575	
	2012	1,759	
cms 1	2011	15,40±0,18	6,44
	2012	16,33±0,23	7,68
cms 2	2011	15,80±0,18	6,35
	2012	17,76±0,20	6,24
EL0204xcms1	2011	14,62±0,20	7,39
	2012	16,73±0,20	6,54
EL0204xcms2	2011	14,62±0,17	6,18
	2012	16,88±0,13	4,17
EL53xcms1	2011	13,85±0,12	4,62
	2012	17,29±0,05 d	3,76
EL53xcms2	2011	13,21±0,27 d-	11,20

	2012	14,62±0,10	1,52
NS1xcms1	2011	14,36±0,37	14,19
	2012	16,18±0,21	7,26

Nastavak tab. 13.

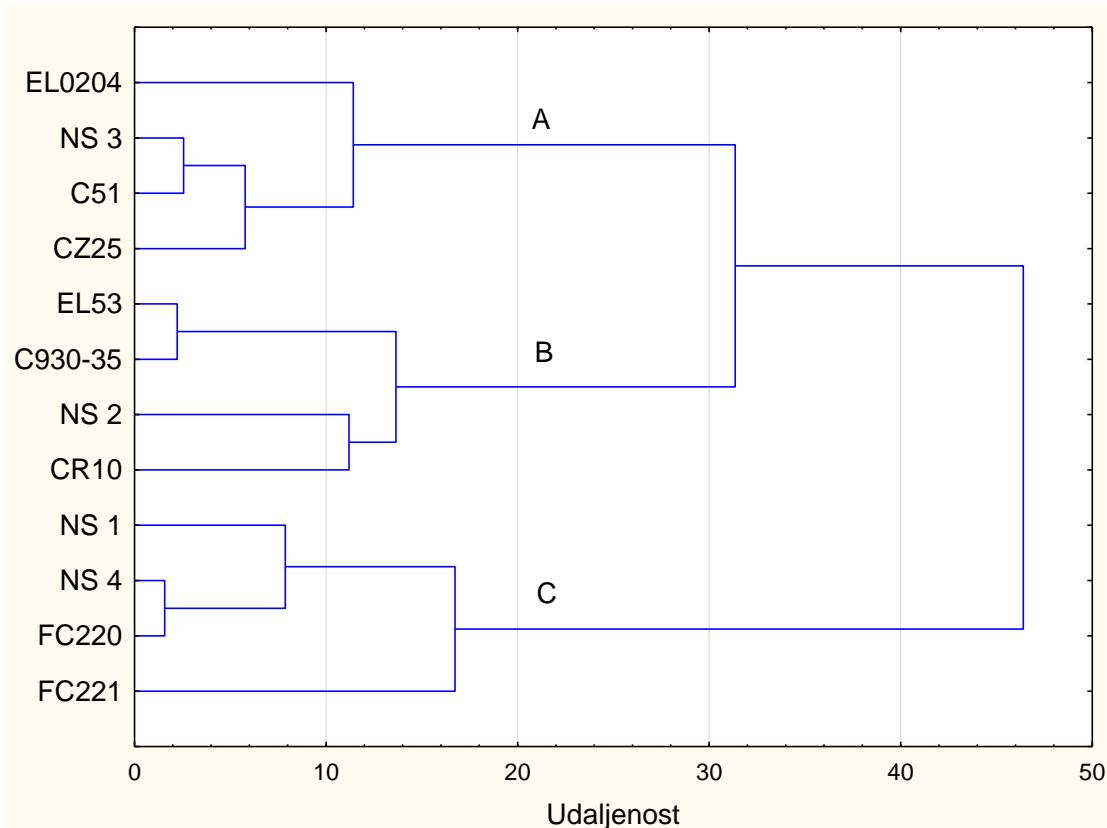
Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
NS1xcms2	2011	15,70±0,09 d	3,19
	2012	16,95±0,09	2,78
NS2xcms1	2011	13,37±0,48	19,61
	2012	17,32±0,19	6,00
NS2xcms2	2011	14,44±0,28	10,44
	2012	16,87±0,08	2,46
NS3xcms1	2011	11,83±0,28 d-	13,12
	2012	17,52±0,07	2,22
NS3xcms2	2011	13,05±0,37	15,55
	2012	17,74±0,04	1,18
C51xcms1	2011	13,17±0,29	12,04
	2012	17,14±0,03	1,05
C51xcms2	2011	14,36±0,22	8,36
	2012	17,21±0,18	5,84
CR10xcms1	2011	13,75±0,29 d	11,65
	2012	16,17±0,10	3,50
CR10xcms2	2011	12,70±0,11 i	4,87
	2012	16,53±0,14	4,61
C930-35xcms1	2011	14,68±0,23	8,58
	2012	16,70±0,10	3,33
C930-35xcms2	2011	13,58±0,44	17,61
	2012	17,29±0,08 d	2,68
CZ25xcms1	2011	13,37±0,19	7,67
	2012	17,03±0,17	5,39
CZ25xcms2	2011	14,33±0,22	8,24
	2012	17,82±0,10	3,13
NS4xcms1	2011	14,55±0,25	9,57
	2012	16,96±0,17	5,55
NS4xcms2	2011	15,42±0,14	4,96
	2012	17,76±0,11	3,29
FC221xcms1	2011	16,37±0,09 d	3,02
	2012	17,66±0,10 d	9,02
FC221xcms2	2011	14,44±0,28	10,70
	2012	15,91±0,26	3,10
FC220xcms1	2011	14,70±0,15	5,45
	2012	16,96±0,12	3,87
FC220xcms2	2011	15,11±0,03	1,17
	2012	17,04±0,25	7,97
Prosek	2011	14,15	9,14
	2012	16,93	4,17

d – dominacija boljeg roditelja; d- – dominacija slabijeg roditelja;

i – intermedijarnost



Prilikom konstruisanja dendrograma koeficijent varijacije je bio glavni faktor razdvajanja i oprašivači su podeljeni u tri grupe (graf. 6).



Grafikon 6. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprašivača šećerne repe za iskorišćenje šećera

Grupu A su činili oprašivači (EL0204, NS3, C51 i CZ25) koji su u obe godine istraživanja imali veliki koeficijent varijacije ( $\bar{V} = 7,60\%$ ), dok je iskorišćenje bilo na nivou proseka svih oprašivača (2011,  $\bar{X} = 14,31\%$ ; 2012,  $\bar{X} = 16,69\%$ ). Drugu grupu su činili oprašivači, kod kojih je koeficijent varijacije u prvoj godini bio visok ( $\bar{V} = 10,08\%$ ), a u drugoj nizak ( $\bar{V} = 3,04\%$ ) i koji su imali najmanje vrednosti iskorišćenja u obe godine istraživanja (2011,  $\bar{X} = 13,02\%$ ; 2012,  $\bar{X} = 16,05\%$ ). Grupu C su činili oprašivači NS1, NS4 i FC220, koji su imali najveće vrednosti iskorišćenja u obe godine istraživanja (2011,  $\bar{X} = 14,83\%$ ; 2012,  $\bar{X} = 17,45\%$ ), kojima se na najvišem hijerarhijskom nivou priključio oprašivač FC221 zbog slične vrednosti koeficijenta varijacije za ovo svojstvo ( $\bar{V} = 3,71\%$ )(tab. 13).

### **6.1.7. Prinos kristalnog šećera**

Najvažniji pokazatelj vrednosti nekog genotipa šećerne repe je prinos kristalnog šećera. Najveći prinos kristalnog šećera po korenju repe u 2011. godini ostvario je oprašivač EL0204 od  $\bar{X} = 99,3\text{g}$ , a najmanji oprašivač CR10 od  $\bar{X} = 43,8\text{g}$ . U drugoj godini istraživanja najveći prinos kristalnog šećera zabeležen je kod oprašivača EL53 od  $\bar{X} = 66,8\text{g}$ , iza kog su sledili oprašivač FC220 sa  $\bar{X} = 66,6\text{g}$  i oprašivač CZ25 sa  $\bar{X} = 65,5\text{g}$ . Sa druge strane najmanji prinos kristalnog šećera po korenju je opet imao oprašivač CR10 i on je iznosio  $\bar{X} = 38,7\text{g}$ . Koeficijent varijacije kod autosterilnih oprašivača se kretao od  $V=2,71\%$  do  $V=28,01\%$ , a kod autofertilnih od  $V=6,69\%$  do  $V=19,23\%$ . Prosečno smanjenje prinosa kristalnog šećera po korenju repe kod oprašivača, usled suše koja se desila 2012. godine, je iznosilo  $\bar{X} = 19\text{g}$  u odnosu na prinos iz 2011. godine. Nisu svi oprašivači reagovali jednakim smanjenjem prinosa kristalnog šećera. Naprotiv, kod oprašivača NS4 došlo je do povećanja od  $1,4\text{g}$ , a kod oprašivača FC220 smanjenja prinosa kristalnog šećera od  $5,2\text{g}$  (tab. 14).

Prinos kristalnog šećera po korenju repe kod testera je bio manji u drugoj godini istraživanja, s tim da je druga linija reagovala na sušu većim smanjenjem. Kao i kod ostalih svojstava, s obzirom da su u pitanju citoplazmatičnomuški sterilne linije, koeficijent varijacije je bio mnogo manji u poređenju sa ispitivanim oprašivačima i kretao se od  $V=2,48\%$  do  $V=11,85\%$  (tab. 14).

Prinos kristalnog šećera kod hibridnih kombinacija u prvoj godini istraživanja se kretao od  $\bar{X} = 81,7\text{g}$  kod kombinacije NS3xcms1, do  $\bar{X} = 126,2\text{ g}$  kod kombinacije FC220xcms2. U drugoj godini istraživanja vrednosti prinosa kristalnog šećera su se kretale od  $\bar{X} = 59,1\text{g}$  kod hibridne kombinacije NS4xcms2, do  $\bar{X} = 81,7\text{g}$  kod hibridne kombinacije FC220xcms2. Prosečna vrednost prinosa kristalnog šećera u drugoj godini istraživanja bila je veća za  $36,8\text{g}$  u odnosu na prosek iz 2011. godine. Koeficijent varijacije za ovo svojstvo se kod hibridnih kombinacija kretao od  $V=0,69\%$  do  $V=30,44\%$ . Prosečna vrednost koeficijenta varijacije kod hibridnih kombinacija u odnosu na oprašivače je bila niža u proseku za obe godine istraživanja za  $2,2\%$  (tab. 14).

Tabela 14. Srednje vrednosti, način nasleđivanja i pokazatelji varijabilnosti roditelja i F1 hibrida za prinos kristalnog šećera (g) šećerne repe

Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
EL0204	2011	99,3±2,48	13,67
	2012	64,1±0,63	5,37
EL53	2011	92,3±0,52	3,09
	2012	66,8±1,27	10,38
NS 1	2011	80,2±4,10	28,01
	2012	59,7±1,98	18,18
NS 2	2011	81,5±2,90	19,50
	2012	61,3±1,65	14,71
NS 3	2011	81,3±3,24	21,80
	2012	64,5±0,32	2,71
C51	2011	84,8±2,45	15,80
	2012	62,8±1,69	14,76
CR10	2011	43,8±1,54	19,23
	2012	38,7±1,15	16,30
C930-35	2011	88,1±1,80	11,16
	2012	57,7±1,27	12,02
CZ25	2011	87,0±2,73	17,18
	2012	65,5±1,42	11,83
NS 4	2011	56,7±1,41	13,60
	2012	58,1±0,36	3,44
FC221	2011	73,2±1,70	12,73
	2012	45,8±2,12	25,40
FC220	2011	71,8±0,88	6,69
	2012	66,6±1,07	8,78
Prosek	2011	78,3	15,20
	2012	59,3	11,99
NZR 0,05	2011	18,67	
	2012	10,43	
NZR 0,01	2011	25,38	
	2012	14,18	
cms 1	2011	72,5±0,57	4,30
	2012	46,2±1,01	11,94
cms 2	2011	101,1±1,40	7,56
	2012	49,6±0,90	9,96
EL0204xcms1	2011	118,9±5,59	25,74
	2012	77,7±1,60 d	11,31
EL0204xcms2	2011	108,6±2,95	14,89
	2012	74,1±0,09 h	0,69
EL53xcms1	2011	98,7±2,23 d	12,40
	2012	66,2±0,96 d	7,97
EL53xcms2	2011	110,1±1,72 d	8,56
	2012	67,3±1,38 d	11,26
NS1xcms1	2011	99,7±3,46	19,03
	2012	70,0±3,89	30,44

Nastavak tab. 14.

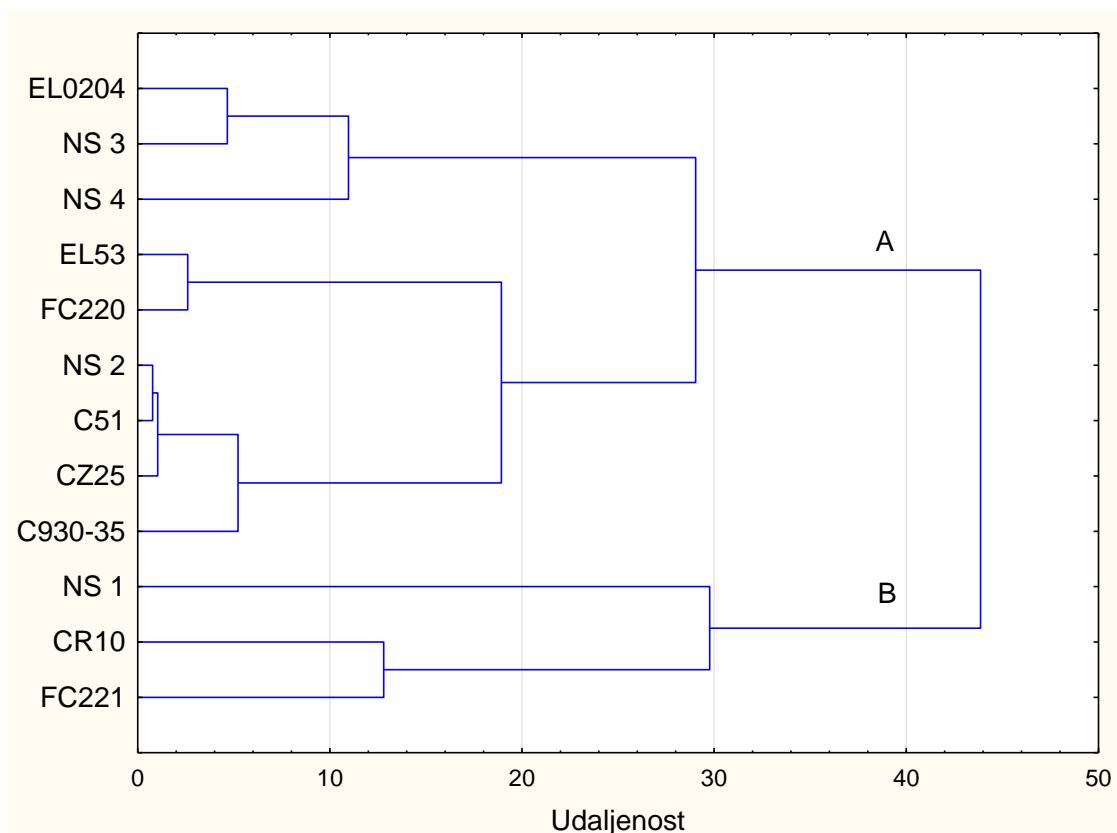
Roditelji i F <sub>1</sub> hibridi	Godina	$\bar{X} \pm s_x$	V
NS1xcms2	2011	116,9±0,68 <b>h</b>	3,18
	2012	79,9±2,52	17,30
NS2xcms1	2011	92,9±4,25	25,04
	2012	74,1±1,01 <b>d</b>	7,46
NS2xcms2	2011	119,2±3,85	17,71
	2012	68,0±0,52 <b>d</b>	4,22
NS3xcms1	2011	81,7±3,82	25,62
	2012	78,5±0,99 <b>h</b>	6,89
NS3xcms2	2011	108,1±4,15	21,01
	2012	70,2±1,42 <b>d</b>	11,11
C51xcms1	2011	105,3±4,69	24,41
	2012	70,4±0,64 <b>d</b>	4,96
C51xcms2	2011	117,6±4,01	18,67
	2012	68,7±1,47 <b>d</b>	11,75
CR10xcms1	2011	121,6±2,75 <b>h</b>	12,41
	2012	75,0±0,64 <b>h</b>	4,64
CR10xcms2	2011	113,2±1,99 <b>d</b>	9,64
	2012	70,7±0,28 <b>h</b>	2,21
C930-35xcms1	2011	104,7±1,10 <b>d</b>	5,75
	2012	68,1±1,34 <b>d</b>	10,79
C930-35xcms2	2011	113,7±2,49 <b>d</b>	12,01
	2012	79,6±0,80 <b>h</b>	5,53
CZ25xcms1	2011	111,3±4,06 <b>d</b>	19,98
	2012	78,2±1,80 <b>d</b>	12,60
CZ25xcms2	2011	108,4±2,19	11,09
	2012	75,9±1,93 <b>d</b>	13,97
NS4xcms1	2011	93,9±2,86 <b>d</b>	16,65
	2012	73,2±1,01 <b>h</b>	7,54
NS4xcms2	2011	103,9±2,20 <b>d</b>	11,58
	2012	59,1±0,94	8,73
FC221xcms1	2011	123,4±1,54 <b>h</b>	6,81
	2012	74,3±1,07 <b>h</b>	7,91
FC221xcms2	2011	117,3±1,23 <b>h</b>	5,74
	2012	68,3±0,97 <b>h</b>	7,74
FC220xcms1	2011	111,2±0,44 <b>h</b>	2,15
	2012	74,1±0,16 <b>h</b>	1,15
FC220xcms2	2011	126,2±1,99 <b>h</b>	8,62
	2012	81,7±0,05 <b>h</b>	0,34
Prosek	2011	109,4	14,11
	2012	72,6	8,69

**d** – dominacija boljeg roditelja; **h** – heterozis

U nasleđivanju prinosa kristalnog šećera ispoljio se heterozis efekat i dominacija boljeg roditelja. Kod pojedinih hibridnih kombinacija gde su opršivači

bili populacije slobodne oplodnje način nasleđivanja se nije mogao odrediti (tab. 14).

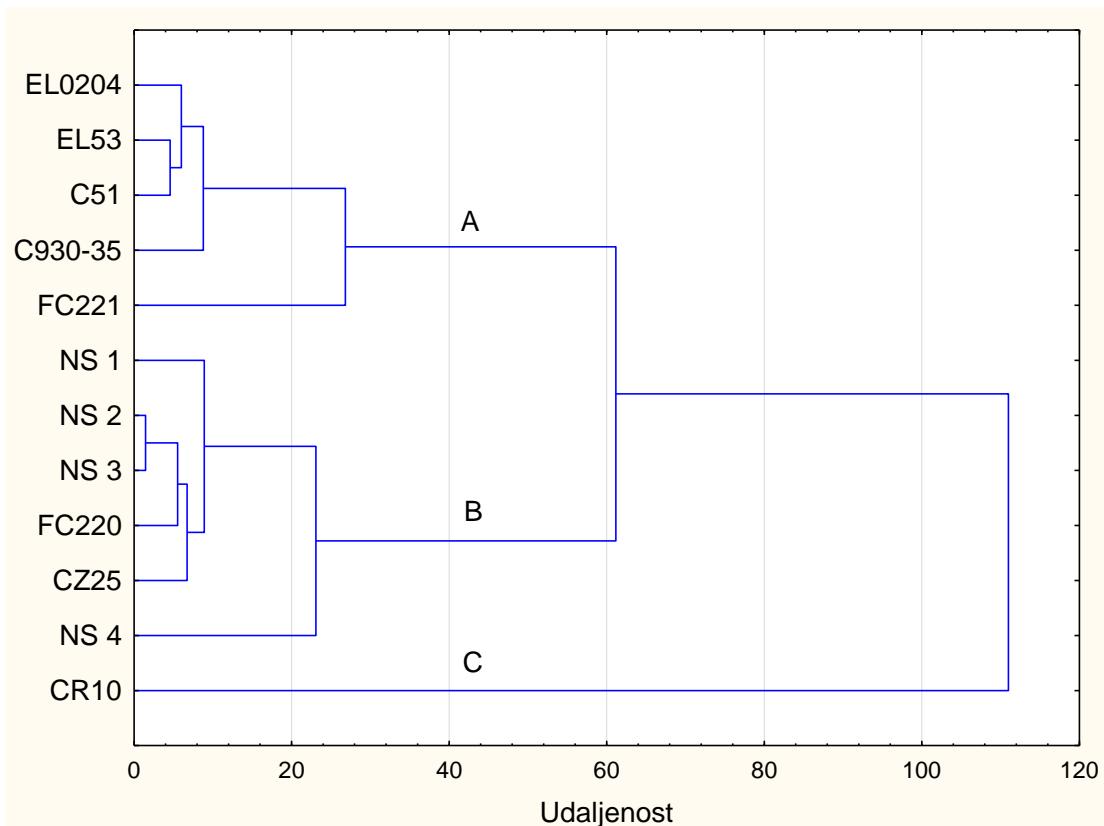
Na osnovu rezultata merenja prinosa kristalnog šećera po korenju repe i pokazatelja varijabilnosti konstruisan je dendrogram, prema kome su oprašivači podeljeni u dve grupe. Grupa A se sastoji iz tri podgrupe. Prvu podgrupu čine oprašivači EL0204, NS3 i NS4, koji su imali manji koeficijent varijacije u 2012. godini ( $\bar{V} = 3,84\%$ ) u odnosu na koeficijent varijacije iz 2011. godine ( $\bar{V} = 16,36\%$ ). Drugu podgrupu čine oprašivači EL53 i FC220, koji su u drugoj godini istraživanja imali veći koeficijent varijacije (2011,  $\bar{V} = 4,89\%$ ; 2012,  $\bar{V} = 9,58\%$ ), dok su treću podgrupu činili oprašivači kod kojih je koeficijent varijacije imao slične vrednosti u obe godine istraživanja ( $\bar{V} = 14,62\%$ ). Grupa B se sastoji od tri oprašivača CR10, FC221 i NS1, kod kojih je zabeležen najveći koeficijent varijacije u obe godine istraživanja (2011,  $\bar{V} = 19,99\%$ ; 2012,  $\bar{V} = 19,96\%$ ) (graf. 7; tab. 14).



Grafikon 7. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih opršivača šećerne repe za prinos kristalnog šećera po korenju šećerne repe

### 6.1.8. Zbirni klaster

Na osnovu proseka sedam kvantitativnih svojstava šećerne repe korišćenih u ovom istraživanju dobijen je zbirni klaster. Prisustvo gena autofertilnosti odnosno autosterilnosti nije bilo značajno prilikom konačnog grupisanja, zbog toga što pri konstruisanju konačnog dendrograma nisu korišćeni pokazatelji varijabilnosti, čije su vrednosti razdvajale ove dve grupe genotipova kod dendrograma formiranih za pojedinačna svojstva (graf. 8.).



Grafikon 8. Dendrogram fenotipskih razlika ispitivanih oprasivača šećerne repe za sva svojstva

Osnovu sličnosti prilikom formiranja grupa činila su svojstva vezana za sadržaj šećera i masu korena, najvažnije pokazatelje vrednosti nekog genotipa šećerne repe. Grupu A su tako činili oprasivači sa manjim sadržajem šećera ( $\bar{X} = 17,30\%$ ), ali sa većom masom korena ( $\bar{X} = 507,9\text{g}$ ) i u njoj su bili zastupljeni oprasivači iz sva tri oplemenjivačka centra Ministarstva poljoprivrede SAD. Drugu grupu su činili oprasivači sa većim sadržajem šećera ( $\bar{X} = 18,43\%$ ) i manjom masom korena ( $\bar{X} = 461,5\text{g}$ ). Sva četiri oprasivača kolekcije Odeljenja za šećernu

repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad su bila u toj grupi. Pored njih u toj grupi su bila dva oprasivača poreklom iz dva oplemenjivačka centra Američkog ministarstva poljoprivrede, koja su se odlikovala visokim sadržajem šećera. Ovim dvema grupama na najvišem hijerarhijskom nivou se priključio oprasivač CR10, koji se izdvajao od ostalih u svim ispitivanim svojstvima. CR10 je imao najmanje vrednosti skoro svih ispitivanih svojstava u obe godine istraživanja. Jedino je u 2012.godini imao veće vrednosti pokazatelja kvaliteta korena od oprasivača C930-35.

## 6.2. Rezultati analize linija x tester

### 6.2.1. Analiza varijanse

Analizom varijanse u obe godine istraživanja utvrđene su visoko značajne razlike između svih ispitivanih genotipova za sva svojstva. Takođe su utvrđene visoko značajne razlike i između roditelja za sva ispitivana svojstva. Kod interakcije roditelja i ukrštanja u 2011.i 2012. godini nisu utvrđene razlike za svojstva koja su se odnosila na kvalitet korena, dok su za ostala svojstva utvrđene visoko značajne razlike. Između ukrštanja nije potvrđeno postojanje razlika za sadržaj suve materije u prvoj godini istraživanja i prinos kristalnog šećera u drugoj godini istraživanja.Između linija u prvoj godini istraživanja utvrđene su visoko značajne razlike za sva ispitivana svojstva, dok u drugoj godini nije utvrđeno postojanje razlika za masu korena i prinos kristalnog šećera.Analizom varijanse kod testera u 2011.godini nisu utvrđene razlike za svojstva pokazatelja kvaliteta korena, dok u 2012. godini nije bilo značajnih razlika samo za prinos kristalnog šećera po korenju. Visoko značajne razlike između interakcija linija i testera utvrđene su samo za masu glave korena u 2011.godini (tab. 15, 16).

Tabela 15.Vrednosti F-testa metode linija x tester za ispitivana svojstva u 2011.godini kod šećerne repe

Izvori varijacije	Masa korena	Masa glave korena	Obim korena	Sadržaj šećera	Sadržaj suve materije	Isk.	PKŠ	0,05	0,01
Genotipovi	9,97**	5,38**	9,93**	2,34**	1,9*	2,76**	6,44**	1,62	1,98
Roditelji	5,85**	2,75**	7,96**	3,00**	2,28*	3,92**	4,21**	1,89	2,45
Roditelji preko ukrštanja	227,9**	67,98**	190,1**	0,11	1,05	0,01	138,22**	3,98	7,01
Ukrštanja	2,82**	4,15**	3,21**	2,06*	1,72	2,22**	1,97*	1,72	2,15
Linije	3,42**	4,29**	4,16**	2,81**	2,15*	3,26**	2,07*	1,97	2,59
Testeri	10,19**	5,7*	15,05**	0,55	0,01	0,49	7,27**	3,98	7,01
Linijaxtester	1,56	3,87**	1,18	1,45	1,46	1,34	1,4	1,97	2,59

Isk. – iskorišćenje šećera; PKŠ – prinos kristalnog šećera

\*, \*\* - značajno na nivou 0,05 i 0,01,(po redosledu)

Tabela 16. Vrednosti F-testa metode linija x tester za ispitivana svojstva u 2012. godini kod šećerne repe

Izvori varijacije	Masa korena	Masa glave korena	Obim korena	Sadržaj šećera	Sadržaj suve materije	Isk.	PKŠ	0,05	0,01
Genotipovi	5,53**	4,39**	10,57**	2,71**	3,82**	2,82**	5,79**	1,62	1,98
Roditelji	4,65**	4,58**	7,54**	3,48**	6,68**	3,53**	4,7**	1,89	2,45
Roditelji preko ukrštanja	99,37**	49,64**	228,81**	2,6	3,95	2,96	115,25**	3,98	7,01
Ukrštanja	1,95*	2,31**	2,8**	2,28**	2,21**	2,41**	1,64	1,72	2,15
Linije	1,59	2,7**	2,9**	2,21*	2,63**	2,19*	1,67	1,97	2,59
Testeri	5,75*	8,09**	7,39**	10,44**	10,25**	12,49**	0,65	3,98	7,01
Linijaxtester	1,96	1,4	2,28*	1,61	1,04	1,72	1,71	1,97	2,59

Isk. – iskorišćenje šećera; PKŠ – prinos kristalnog šećera

\*, \*\* - značajno na nivou 0,05 i 0,01, (po redosledu)

### 6.2.2. Opšte kombinacione sposobnosti

Izuzetno nepovoljni vremenski uslovi tokom perioda istraživanja uticali su i na vrednosti dobijenih opštih kombinacionih sposobnosti.

Testom najmanje značajne razlike za masu korena u prvoj godini istraživanja kao dobar kombinator pokazao se oprašivač CR10, dok je oprašivač NS4 imao visoko značajne negativne vrednosti OKS za ovo svojstvo. U drugoj godini istraživanja zbog ekstremne suše, koja je rezultirala smanjenjem mase korena, nije utvrđeno postojanje razlika u vrednostima OKS između ispitivanih oprašivača. Za masu glave korena u 2011. godini izdvojili su se kao dobri kombinatori oprašivači CR10 i CZ25, dok se u 2012. godini izdvojio oprašivač EL0204, koji je imao značajno pozitivne vrednosti OKS za ovo svojstvo. Kod obima korena dobijeni su slični rezultati, kao i za masu glave korena, s tim što se prethodnim oprašivačima pridružio oprašivač NS4 i to kao loš kombinator (tab. 17).

Tabela 17. Vrednosti OKS oprašivača šećerne repe za ispitivana svojstva u 2011. i 2012. godini

Oprašivači	Masa korena (g)		Masa glave korena (g)		Obim korena (cm)		Sadržaj šećera (%)		Sadržaj suve materije (%)		Iskorišćenje (%)		Prinos kristalnog šećera (g)	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
EL0204	-0,27	22,93	-2,43	10,02*	0,091	1,254*	0,559	-0,056	-0,099	-0,238	0,473	-0,121	4,282	3,259
EL53	1,59	-9,15	-12,1	-7,68	-0,794	-0,988	-0,267	-0,886*	0,214	-1,184*	-0,619	-0,972*	-5,053	-5,88
NS1	-55,17	19,66	-12,8	1,61	-1,268	-0,179	1,016	-0,293	1,151	-0,577	0,879	-0,364	-1,11	2,322
NS2	-16,76	-14,55	6,8	-2,63	0,887	0,162	-0,491	-0,039	-0,159	0,347	-0,243	0,168	-3,384	-1,59
NS3	-18,42	-7,84	-13,65	-4,28	-0,478	0,029	-1,577*	0,608	-1,556	0,632	-1,713*	0,701	-14,529	1,734
C51BM	30,43	-24,54	-3,92	-0,38	-0,288	-0,446	-0,647	0,201	-0,686	0,011	-0,384	0,244	2,012	-3,073
CR10	115,96**	16,23	19,82*	-7,11	2,006*	-0,004	-0,561	-0,496	-0,889	-0,718	-0,924	-0,576	7,946	0,209
C930-35	5,48	4,48	-2,32	0,39	-0,666	0,071	-0,124	0,008	-0,133	0,319	-0,016	0,066	-0,243	1,223
CZ25	17,98	12,21	22,82**	2,11	1,996*	0,337	-0,227	0,548	-0,606	0,679	-0,301	0,497	0,377	4,387
NS4	-115,57**	-48,1	2,95	-4,86	-1,253	-1,263*	0,693	0,501	1,424	0,66	0,835	0,432	-10,466	-6,502
FC221	11,93	-0,79	-16,08	3,69	-0,654	0,288	0,976	-0,123	0,264	-0,395	1,257*	-0,146	10,927	-1,345
FC220	22,83	29,45	10,93	9,11	0,421	0,738	0,649	0,028	1,074	0,465	0,757	0,071	9,242	5,257
<b>NZR 0,05</b>	83,07	50,07	17,81	9,89	1,562	1,137	1,326	0,831	1,719	1,076	1,362	0,905	15,123	8,304
<b>NZR 0,01</b>	110,48	66,59	23,69	13,15	2,078	1,512	1,764	1,106	2,287	1,432	1,811	1,203	20,114	11,044

\*, \*\* - značajno na nivou 0,05 i 0,01, (po redosledu)

Testom najmanje značajne razlike za svojstva kvaliteta korena: sadržaj šećera, sadržaj suve materije i iskorišćenje šećera, izdvojili su se loši kombinatori, opršivač EL53, koji je imao negativne vrednosti OKS za sva tri svojstva u 2012. godini i opršivač NS3, koji je imao negativne vrednosti OKS za sadržaj i iskorišćenje šećera u 2011. godini (tab.17).

Testom najmanje značajne razlike nije utvrđeno postojanje značajnih razlika u OKS za prinos kristalnog šećera po korenju repe između ispitivanih opršivača šećerne repe (tab. 17).

Posmatrajući sva svojstva zajedno izdvajaju se dva opršivača.Opršivač FC220 se izdvojio kao vrlo stabilan kombinator u obe godine istraživanja, beležeći pozitivne vrednosti OKS za sva ispitivana svojstva.Sa druge strane opršivač EL53 je u obe godine istraživanja beležio negativne vrednosti OKS za sva ispitivana svojstva (tab. 17).

### **6.2.3. Posebne kombinacione sposobnosti**

Izuzetan uticaj vremenskih uslova ogledao se i u dobijenim vrednostima posebnih kombinacionih sposobnosti.U sušnim uslovima tokom drugog dela vegetacije 2011.godine i ekstremne suše koja se dogodila u regionu Vojvodine tokom 2012. godine došlo je do smanjenja srednjih vrednosti merenih svojstava kod ispitivanih hibrida.Zbog toga linija x tester analizom nisu utvrđene značajne razlike u vrednostima PKS kod hibridnih kombinacija za sva ispitivana svojstva (tab 18.)

Tabela 18. Vrednosti PKS hibridnih kombinacija šećerne repe za ispitivana svojstva u 2011.i 2012. godini

Hibridne kombinacije	Masa korena (g)		Masa glave korena (g)		Obim korena (cm)		Sadržaj šećera (%)		Sadržaj suve materije (%)		Iskorišćenje (%)		Prinos k. šećera (g)	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
EL0204xcms1	59,66	1,05	13,19	0,25	0,77	0,32	0,12	0,27	-0,08	0,08	0,1	0,25	9,29	1,08
EL0204xcms2	-59,66	-1,05	-13,19	-0,25	-0,77	-0,32	-0,12	-0,27	0,08	-0,08	-0,1	-0,25	-9,29	-1,08
EL53xcms1	-34,88	19,43	-8,28	0,91	-0,78	0,44	0,44	-0,91	-0,53	-0,71	0,42	-1,01	-1,52	-1,26
EL53xcm2	34,88	-19,43	8,28	-0,91	0,78	-0,44	-0,44	0,91	0,53	0,71	-0,42	1,01	1,52	1,26
NS1xcms1	-0,28	-33,65	0,86	-6,2	0,04	-1,17	-0,51	0,01	-0,21	0,03	-0,58	-0,06	-4,48	-5,61
NS1xcms2	0,28	33,65	-0,86	6,2	-0,04	1,17	0,51	-0,01	0,21	-0,03	0,58	0,06	4,48	5,61
NS2xcms1	-40,26	-0,07	-4,94	-1,1	-0,17	-0,31	-0,43	0,49	-0,44	0,43	-0,44	0,55	-8,96	2,34
NS2xcms2	40,26	0,07	4,94	1,1	0,17	0,31	0,43	-0,49	0,44	-0,43	0,44	-0,55	8,96	-2,34
NS3xcms1	-43,99	14,28	-4,93	-0,25	-0,47	-0,22	-0,57	0,18	-0,46	0,17	-0,51	0,21	-9,04	3,47
NS3xcms2	43,99	-14,28	4,93	0,25	0,47	0,22	0,57	-0,18	0,46	-0,17	0,51	-0,21	9,04	-3,47
C51BMxcms1	15,86	-6,62	14,51	0,31	0,98	0,39	-0,4	0,15	-0,46	0,59	-0,5	0,29	-1,98	0,18
C51BMxcms2	-15,86	6,62	-14,51	-0,31	-0,98	-0,39	0,4	-0,15	0,46	-0,59	0,5	-0,29	1,98	-0,18
CR10xcms1	22,53	5,65	-1,49	1,95	0,19	-0,07	0,68	0,14	0,53	0,11	0,63	0,15	8,38	1,5
CR10xcms2	-22,53	-5,65	1,49	-1,95	-0,19	0,07	-0,68	-0,14	-0,53	-0,11	-0,63	-0,15	-8,38	-1,5
C930-35xcms1	-37,36	-38,5	-6,89	-7,39	-0,62	-0,87	0,59	0,07	0,63	-0,15	0,65	0,03	-0,34	-6,43
C930-35xcms2	37,36	38,5	6,89	7,39	0,62	0,87	-0,59	-0,07	-0,63	0,15	-0,65	-0,03	0,34	6,43
CZ25xcms1	63,18	5,13	25,11	0,83	0,46	0,1	-0,4	-0,06	-0,48	-0,23	-0,38	-0,07	5,6	0,5
CZ25xcms2	-63,18	-5,13	-25,11	-0,83	-0,46	-0,1	0,4	0,06	0,48	0,23	0,38	0,07	-5,6	-0,5
NS4xcms1	12,16	37,55	-21,73	4,4	-0,81	0,65	-0,36	-0,1	-0,25	-0,02	-0,34	-0,07	-0,84	6,41
NS4xcms2	-12,16	-37,55	21,73	-4,4	0,81	-0,65	0,36	0,1	0,25	0,02	0,34	0,07	0,84	-6,41
FC221xcms1	-5,01	29,86	0,47	8,15	0,52	0,94	1,09	-0,5	1,99	-0,63	1,06	-0,55	7,19	2,28
FC221xcms2	5,01	-29,86	-0,47	-8,15	-0,52	-0,94	-1,09	0,5	-1,99	0,63	-1,06	0,55	-7,19	-2,28
FC220xcms1	-11,61	-34,1	-5,88	-1,84	-0,11	-0,2	-0,23	0,25	-0,2	0,33	-0,11	0,28	-3,3	-4,46
FC220xcms2	11,61	34,1	5,88	1,84	0,11	0,2	0,23	-0,25	0,2	-0,33	0,11	-0,28	3,3	4,46
<b>NZR 0,05</b>	117,48	70,81	25,19	13,99	2,21	1,61	1,88	1,18	2,43	1,52	1,93	1,28	21,39	11,74
<b>NZR 0,01</b>	156,24	94,18	33,5	18,6	2,94	2,14	2,49	1,56	3,23	2,02	2,56	1,7	28,45	15,62

#### **6.2.4. Efekat gena i prosečan doprinos linija, testera i njihove interakcije za ispitivana svojstva šećerne repe**

Neadiativna komponenta genetičke varijanse je u obe godine istraživanja bila veća od aditivne komponente za sledeća svojstva korena šećerne repe: masu korena, masu glave korena, sadržaj šećera, iskorišćenje i prinos kristalnog šećera po korenju repe. Za obim korena je u prvoj godini istraživanja aditivna komponenta genetičke varijanse bila veća od dominantne, dok je u drugoj godini bilo obrnuto. Kod sadržaja suve materije neadiativna komponenta genetičke varijanse je bila veća u 2011.godini, a u 2012. godini aditivna komponenta (tab.19).

Ispitivanjem proporcionalnog doprinosa u ekspresiji ispitivanih svojstava, linija, testera i njihovih interakcija u 2011.godini, utvrđeno je da su najveći doprinos imale linije, a zatim interakcije između linija i testera, i tek na kraju testeriza sva ispitivana svojstva. U 2012.godini za masu korena i prinos kristalnog šećera po korenju repe najveći doprinos u ekspresiji ovih svojstava su imale interakcije linija i testera, a posle njih linije. Za ostala svojstva redosled značaja proporcionalnog doprinosa linija, testera i njihovih interakcija je ostao isti kao i u prvoj godini istraživanja. Ipak uočeno je značajno povećanje doprinosa testera za svojstva povezana sa kvalitetom korena šećerne repe u 2012. godini (tab. 20).

Tabela 19. Komponente genetičke varijanse za ispitivana svojstva šećerne repe

Komponente	Masa korena		Masa glave korena		Obim korena		Sadržaj šećera		Sadržaj suve materije		Iskorišćenje		Prinos šećera	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Aditivna	326,6	13,4	6,6	3,4	0,176	0,031	0,044	0,019	0,039	0,049	0,062	0,023	5,4	0,2
Dominantna	963	603,1	227,8	9,9	0,111	0,413	0,198	0,106	0,336	0,013	0,16	0,147	22,7	12,2

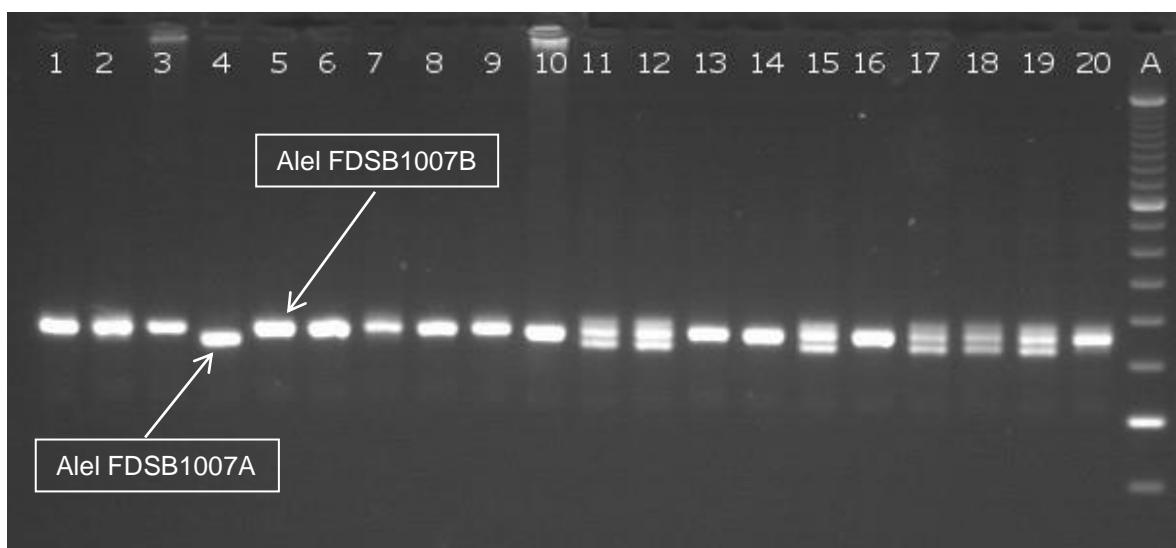
Tabela 20. Prosečni doprinos (%) linija, testera i njihove interakcije u ekspresiji ispitivanih svojstava šećerne repe

Prosečni doprinos	Masa korena		Masa glave		Obim korena		Sadržaj šećera		Sadržaj suve materije		Iskorišćenje		Prinos šećera	
	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012	2011	2012
Linija	57,9	39,04	49,4	55,75	62,01	49,54	65,21	46,25	59,58	57,15	70,13	43,45	50,08	48,57
Testera	15,69	12,82	5,97	15,21	20,38	11,48	1,15	19,9	0,02	20,2	0,95	22,5	16,04	1,71
Linija x tester	26,41	48,14	44,63	29,04	17,61	38,98	33,64	33,85	40,4	22,65	28,92	34,05	33,88	49,72
Ukupno	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

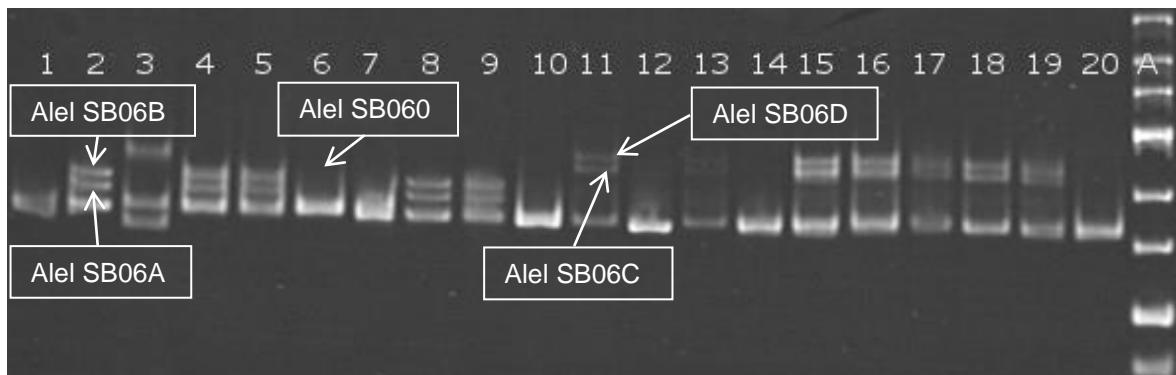
### **6.3. Rezultati analize SSR markerima**

Na osnovu obavljene DNK analize genetičke divergentnosti ispitivanih genotipova šećerne repe, umnoženo je ukupno 129 različitih alela korišćenjem seta od 40 mikrosatelitskih markera (slika 1, 2). Mikrosatelitski markeri BQ583448, FDSB1300, SB07, SB15, BU89565, FDSB568, FDSB990, FDSB502, FDSB1011 i SB1033 su se amplifikovalina dva nevezana lokusa, BI543628 i BQ487642 na tri, a ostali su bili specifični za pojedinačne lokuse. Polimorfnost mikrosatelitskih markera i heterozigotnost analizirani su korišćenjem broja alela (Na), heterozigotnosti (He) po Nei (1973) i indeksom polimorfne informacije (PIC). Broj alela po mikrosatelu se kretao od dva do šest, a prosečan broj iznosio je 3,225 alela. Najveća heterozigotnost od 0,748 i PIC vrednost od 0,703 utvrđeni su mikrosatelim SB15s, a najmanja heterozigotnost od 0,247 i PIC vrednost od 0,220 mikrosatelim BQ590934. Prosečna vrednost heterozigotnosti unutar ispitivanih genotipova iznosila je 0,546, a indeks polimorfne informacije 0,465(tab. 21).

Prema rezultatima procene genetičke varijabilnosti između i unutar populacija oprašivača šećerne repe, broj i procenat polimorfnih lokusa bio je najveći kod oprašivača NS1 i testera cms2. Broj alela kao i broj efektivnih alela je bio najveći kod oprašivača EL0204. Heterozigotnost kod oprašivača se kretala od 0,301 kod CR10 do 0,499 kod EL0204, sa prosečnom vrednošću 0,428 u okviru populacija i ukupnom vrednošću 0,455 između populacija. Kao još jedna mera varijabilnosti u okviru populacija korišćen je Shannon-ov indeks i on je bio najveći kod oprašivača EL0204. Prosečna vrednost ovog indeksa kod populacija je iznosila 0,642, a ukupna genetička divergentnost između populacija iznosila je 0,903(tab. 22).



Slika 1. Proizvodi PCR reakcije sa prajmerom FDSB1007 na metafor agaroznom gelu, oprašivači C930-35 (1-10) i NS4 (11-20), A – 1kb - GeneRuler™ 100bp Plus ladder



Slika 2. Proizvodi PCR reakcije sa prajmerom SB06 na 8% PAGE gelu, oprašivači EL0204 (1-10) i EL53 (11-20), A – 1kb - GeneRuler™ 100bp Plus ladder

Tabela 21. Informativnost 40 SSR markera, broj alela (Na), efektivni broj alela (Ne), heterozigotnost (He) i indeks polimorfne informacije (PIC)

SSR marker	Na	Ne	He	PIC
521.6	4	2,84	0,647	0,595
BIO96078	3	2,03	0,507	0,425
BQ583448A	3	2,58	0,613	0,537
BQ583448B	3	2,93	0,659	0,585
FDSB1300S	2	1,89	0,471	0,360
FDSB1300F	3	1,95	0,474	0,362
EG551958	3	1,99	0,496	0,386
BI543628A	2	1,70	0,411	0,327
BI543628B	2	1,97	0,494	0,372
BI543628C	3	2,06	0,514	0,395
SB07s	4	2,63	0,620	0,566
SB07f	2	1,77	0,434	0,340
SB06	4	3,21	0,687	0,639
SB04	4	3,43	0,712	0,658
DX580514	5	1,91	0,475	0,436
SB15s	6	3,94	0,748	0,703
SB15f	3	2,56	0,609	0,563
EG552348	3	2,09	0,522	0,413
BU89565A	2	1,86	0,463	0,356
BU89565B	4	2,69	0,630	0,554
FDSB568s	4	3,23	0,691	0,630
FDSB568f	3	2,09	0,521	0,456
BVGTT1	2	1,49	0,328	0,274
BQ487642A	3	2,20	0,546	0,442
BQ487642B	3	2,25	0,554	0,460
BQ487642C	3	2,16	0,538	0,433
FDSB990s	4	2,92	0,658	0,587
FDSB990f	3	2,65	0,622	0,551
FDSB502s	5	3,72	0,733	0,689
FDSB502f	3	2,23	0,552	0,450
FDSB1250	3	2,28	0,562	0,481
FDSB1011A	4	2,74	0,635	0,558
FDSB1011B	3	1,68	0,406	0,370
FDSB1007	2	1,42	0,298	0,253
BQ590934	3	1,33	0,247	0,220
BQ582799	3	2,20	0,546	0,442
BIO73246	2	2,01	0,499	0,375
SB1033s	4	1,98	0,496	0,454
SB1033f	5	2,56	0,610	0,531
FDSB1001	2	1,99	0,499	0,375
Prosek	3,225	2,329	0,546	0,465

Tabela 22. Procena genetičke varijabilnosti populacija šećerne repe SSR markerima

Populacija	P (No)	P (%)	Na	Ne	obs. Het	exp Het	I
EL0204	39	97,5	2,600±0,778	2,083±0,661	0,335±0,285	0,499±0,173	0,765±0,302
EL53	38	95	2,325±0,616	1,800±0,542	0,283±0,287	0,421±0,183	0,638±0,283
NS1	40	100	2,375±0,586	1,855±0,567	0,295±0,254	0,441±0,156	0,667±0,252
NS2	37	92,5	2,400±0,778	1,900±0,498	0,282±0,259	0,458±0,182	0,683±0,285
NS3	39	97,5	2,600±0,744	2,042±0,598	0,293±0,252	0,490±0,175	0,758±0,297
C51	39	97,5	2,575±0,712	1,947±0,565	0,258±0,290	0,463±0,184	0,718±0,294
CR10	29	72,5	2,000±0,817	1,586±0,500	0,243±0,327	0,301±0,251	0,452±0,371
C930-35	35	87,5	2,200±0,723	1,722±0,508	0,275±0,307	0,385±0,206	0,575±0,307
CZ25	38	95	2,400±0,672	1,888±0,464	0,338±0,297	0,456±0,172	0,677±0,261
NS4	37	92,5	2,250±0,588	1,795±0,439	0,383±0,305	0,426±0,176	0,628±0,261
FC221	36	90	2,470±0,877	1,930±0,571	0,303±0,304	0,451±0,207	0,687±0,333
FC220	29	72,5	1,925±0,694	1,599±0,519	0,248±0,315	0,322±0,237	0,470±0,345
cms1	40	100	2,300±0,516	1,895±0,339	0,388±0,316	0,479±0,109	0,690±0,169
cms2	34	85	2,100±0,672	1,765±0,496	0,326±0,343	0,402±0,208	0,583±0,308
Prosek		91,07	2,323±0,698	1,845±0,526	0,303±0,298	0,428±0,187	0,642±0,290
Total	40	100	3,225±0,891	2,330±0,519	0,303±0,190	0,455±0,114	0,903±0,249

P (No): broj polimorfnih lokusa; P (%): procenat polimorfnih lokusa; Na: ukupan broj alela; Ne: efektivan broj alela; obs Het: posmatrana heterozigotnost; exp Het: očekivana heterozigotnost; I: Shannon informacioni indeks

Prilikom primene analize molekularne varijanse (AMOVA) izvršena je podela genotipova šećerne repe u dve grupe. Jednu grupu su činili cms testeri, a drugu grupu oprašivači. Rezultati AMOVA su pokazali da je najveći deo varijabilnosti bio unutar ispitivanih populacija (76,54%), 22,06% varijabilnosti je bio između populacija unutar grupa, a samo 1,4% varijabilnosti između navedene dve grupe (tab. 23).

Tabela 23. Analiza molekularne varijanse (AMOVA) za ispitivane populacije  
šećerne repe

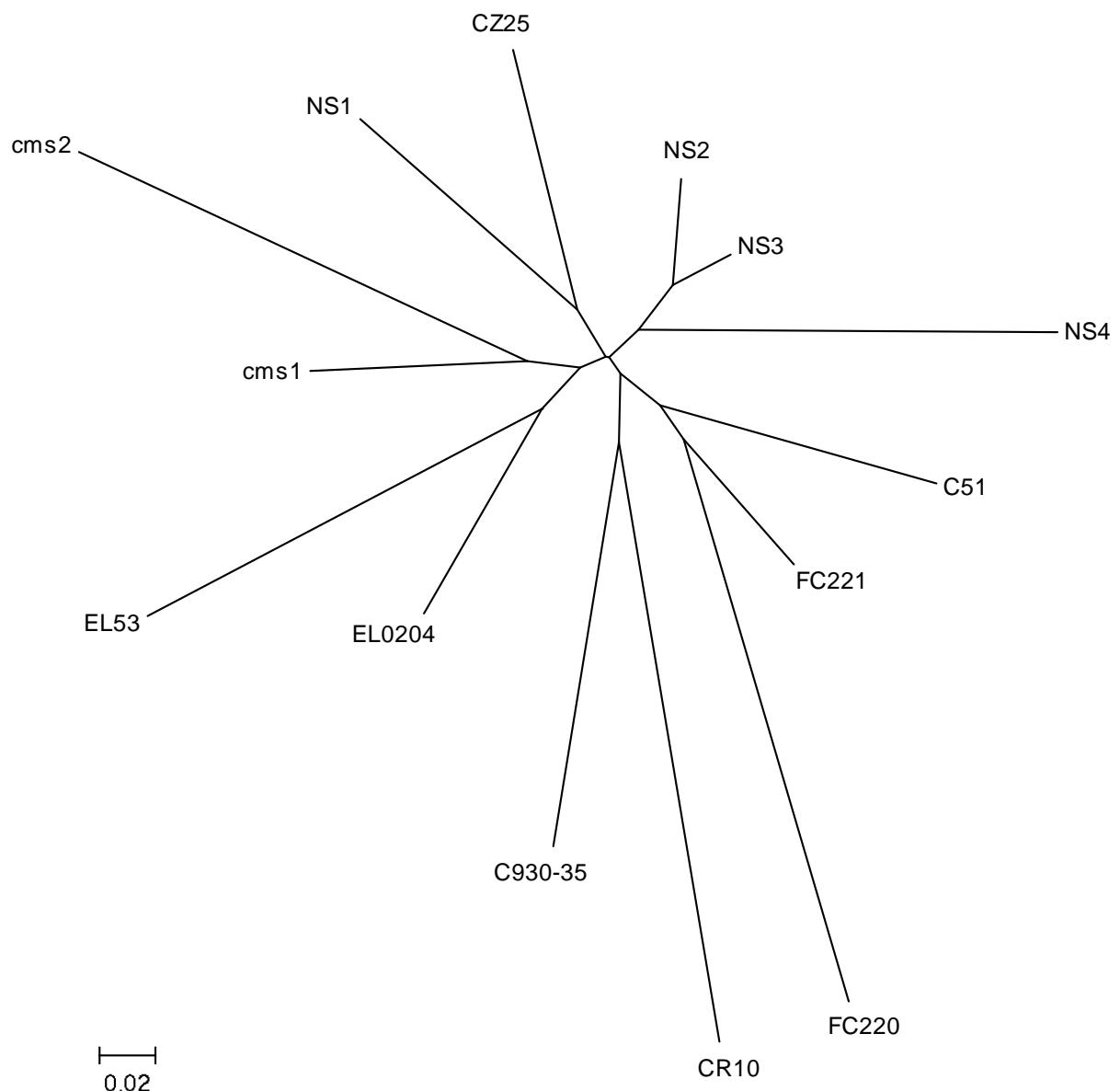
Izvor varijacije	Stepeni slobode	Suma kvadrata	Komponente varijanse	Procenat varijacije	P
Između grupa	1	68594	15663	1,40	<0,001
Između populacija unutar grupa	12	694242	246496	22,06	<0,001
Unutar populacija	266	2275450	855432	76,54	<0,001
Total	279	3038286	1117591		

Genetička udaljenost ispitivanih populacija određena je uz pomoć fiksacionog indeksa udaljenosti između podgrupa  $\Phi_{ST}$ . Najmanja udaljenost utvrđena je između oprašivača NS2 i NS3, ona je iznosila 0,061, dok je najveća iznosila 0,479 i utvrđena je između oprašivača CR10 i FC220(tab. 24).

Na osnovu matrice  $\Phi_{ST}$  vrednosti između proučavanih populacija i primenom *Neighbour-joining* algoritma konstruisan je dendrogram. Ispitivane populacije su se podelile u šest grupa. Prve dve grupe su činili oprašivači iz srpskog oplemenjivačkog programa, kojima se priključio oprašivač CZ25 iz programa Ministarstva poljoprivrede SAD, stanice Salinas. Sledeću grupu su činili oprašivači FC220, FC221 i C51. Posebno su se izdvojili na jednoj grani autofertilni oprašivači CR10 i C930-35 iz programa Ministarstva poljoprivrede SAD, stanica Salinas, a na drugoj grani autosterilni oprašivači EL0204 i EL53 iz programa Ministarstva poljoprivrede SAD, stanica East Lansing. Posebnu grupu su formirali i sterilni testeri cms1 i cms2(graf. 9).

Tabela 24. Matrica  $\Phi_{ST}$  vrednosti izmedju populacija šećerne repe

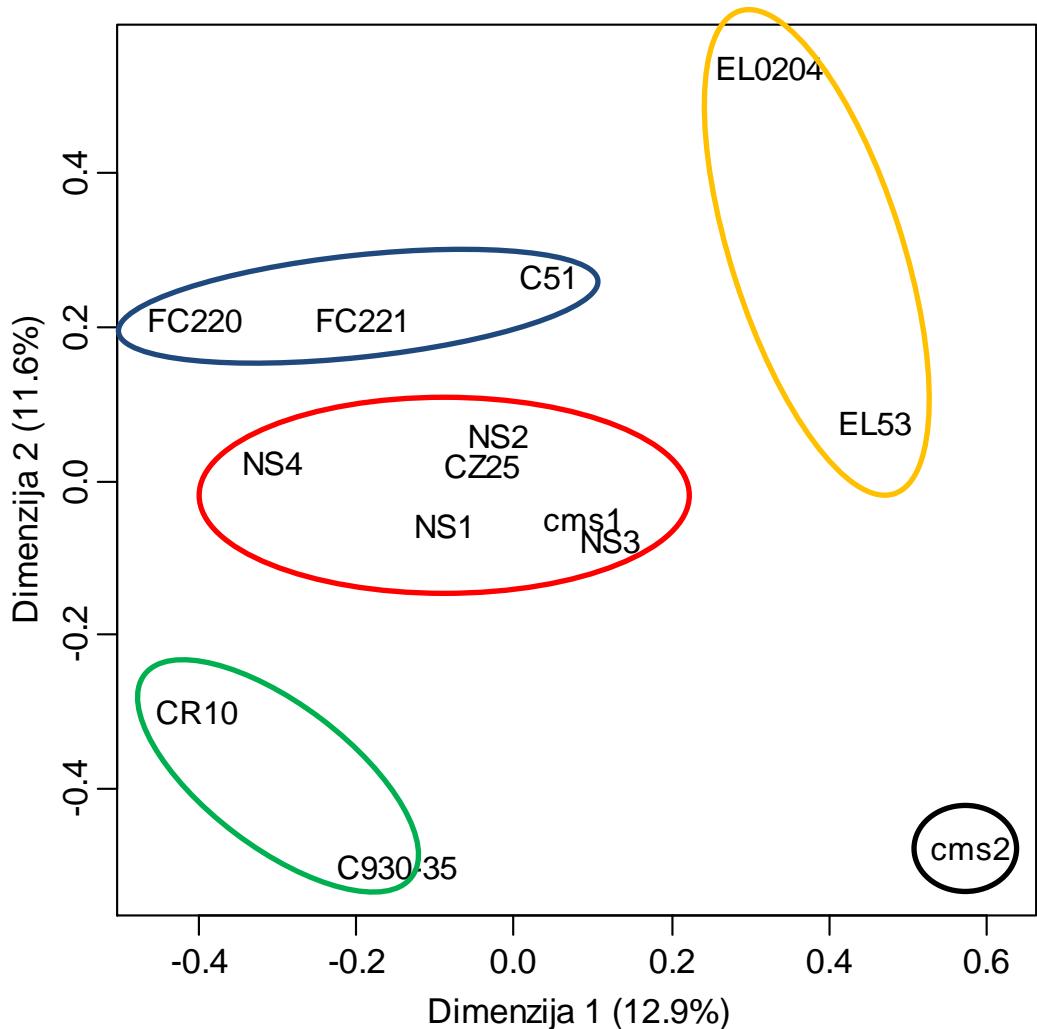
	EL0204	EL53	NS1	NS2	NS3	C51	CR10	C930-35	CZ25	NS4	FC221	FC220	cms1	cms2
EL0204	0													
EL53	0,243	0												
NS1	0,221	0,317	0											
NS2	0,186	0,283	0,205	0										
NS3	0,161	0,239	0,188	0,061	0									
C51	0,187	0,342	0,246	0,190	0,202	0								
CR10	0,376	0,448	0,374	0,337	0,313	0,345	0							
C930-35	0,327	0,340	0,288	0,248	0,223	0,318	0,362	0						
CZ25	0,225	0,296	0,198	0,213	0,213	0,238	0,345	0,306	0					
NS4	0,319	0,357	0,276	0,193	0,207	0,312	0,366	0,369	0,247	0				
FC221	0,200	0,297	0,258	0,139	0,169	0,164	0,353	0,262	0,198	0,260	0			
FC220	0,337	0,422	0,376	0,314	0,324	0,338	0,479	0,373	0,410	0,394	0,268	0		
cms1	0,216	0,286	0,238	0,164	0,132	0,242	0,391	0,287	0,222	0,254	0,171	0,363	0	
cms2	0,313	0,335	0,331	0,288	0,214	0,320	0,465	0,358	0,328	0,398	0,315	0,462	0,254	0



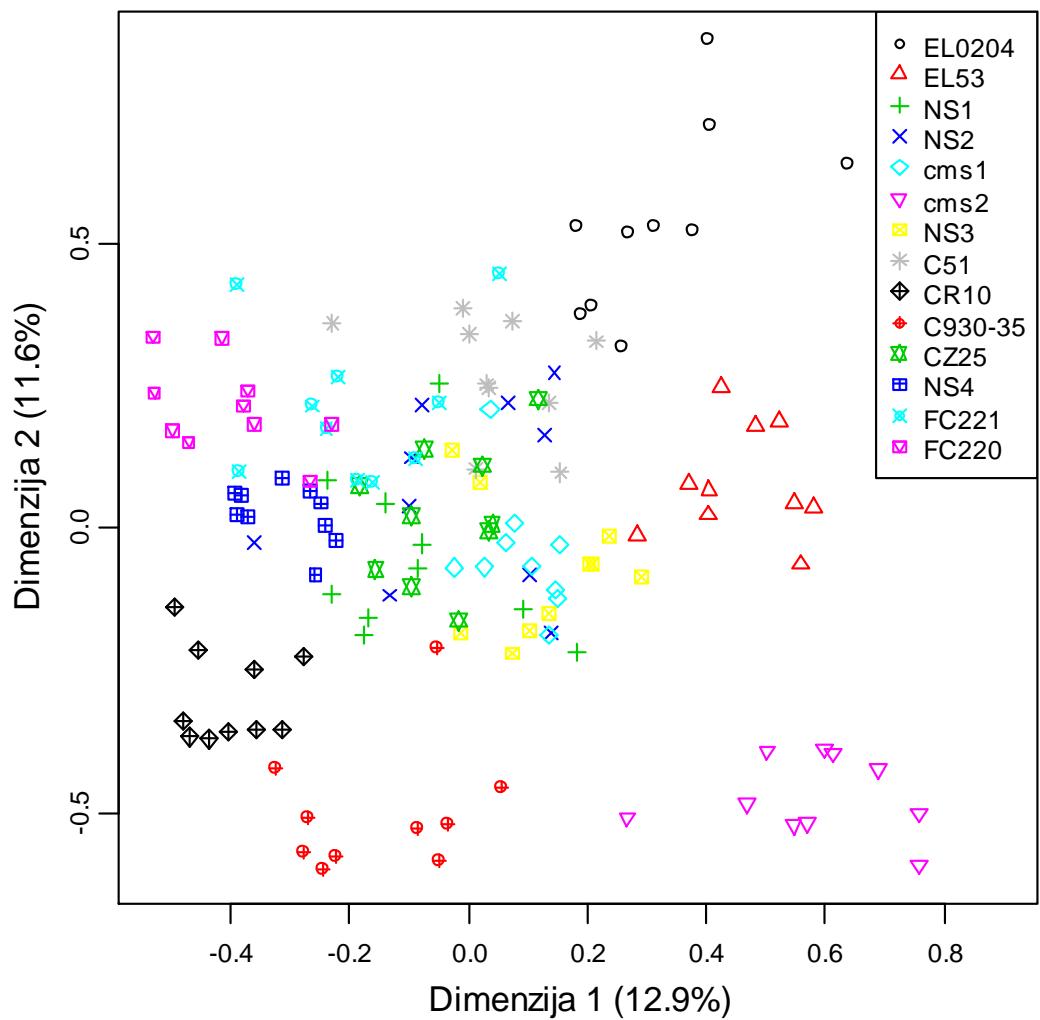
Grafikon 9. *Neighbour-joining* dendrogram 14 populacija šećerne repe konstruisan na osnovu matrice  $\Phi_{ST}$  vrednosti

Pomoću korespondentne analize izvršeno je grupisanje populacija i individua šećerne repe u dvo-dimenzionalnom prostoru. Grupisanje je bilo vrlo slično *Neighbour-joining* dendrogramu, s tom razlikom da je broj grupa smanjen za jednu i da ih je ukupno bilo pet. Najveću grupu su činili opršivači kolekcije Odeljenja za šećernu repu, kojima su se pridružili opršivač CZ25 i tester cms1. Opršivači iz različitih programa Ministarstva poljoprivrede SAD su se potpuno identično grupisali, kao i kod konstruisanja *Neighbour-joining* dendrograma. Prvu grupu su činili EL0204 i EL53, drugu FC220, FC221 i C51,

treću C930-35 i CR10. Korespondentnom analizom posebno se izdvojio tester cms2 (graf. 10 i graf. 11).



Grafikon 10. Grupisanje populacija šećerne repe na osnovu rezultata korespondentne analize



Grafikon 11. Grupisanje individua šećerne repe na osnovu rezultata korespondentne analize

#### 6.4. Korelaciјe

U cilju stvaranja novih hibrida šećerne repe neophodno je da se ukrsti veliki broj genotipova i da se ispita njihovo potomstvo. Poljski ogledi zahtevaju mnogo vremena. Postojanje korelacije između polimorfizma nekog poligenog svojstva, na primer mase korena i molekularnog polimorfizma, olakšalo bi predviđanje kombinacionih sposobnosti genotipova, a samim tim i visokih prinosa.

Između genetičke udaljenosti i vrednosti PKS svih ispitivanih svojstava nije utvrđeno postojanje značajnih korelacija (tab. 25).

Tabela 25. Korelaciјe genetičke udaljenosti izračunate na osnovu polimorfnih markera i posebnih kombinacionih sposobnosti ispitivanih svojstava šećerne repe

	Masa korena	Masa glave korena	Obim korena	Sadržaj šećera	Sadržaj suve materije	Isk.	PKŠ
Genetička udaljenost	-0,031	0,021	-0,020	0,013	-0,057	0,013	-0,014

Isk. – iskorišćenje šećera; PKŠ – prinos kristalnog šećera

## **7. DISKUSIJA**

### **7.1. Kvantitativna svojstva**

Ispitivanja morfoloških i kvantitativnih svojstava korena su nezaobilazan deo testiranja genotipova i novostvorenih hibrida u svim oplemenjivačkim programima šećerne repe. Kvantitativna svojstva korena, pored otpornosti na bolesti i štetočine predstavljaju osnovni kriterijum prilikom izbora genotipova za ukrštanja u klasičnom oplemenjivanju. Takođe, uz pomoć ovih svojstava može da se proceni genetički diverzitet, koji je značajan za organizaciju oplemenjivačkog materijala. Najvažnija kvantitativna svojstva korena šećerne repe su masa korena i sadržaj šećera. Napredak oplemenjivanjem kod ova dva svojstva je bio izuzetan uprkos negativnoj korelaciji između ova dva svojstva (McGrath, 2005). Sadržaj šećera od 5% do 6% sa početka devetnaestog veka porastao je na 20% (Bosemark, 1993), dok prinosi slatkog korena od 70-80t/ha u zemljama zapadne Evrope predstavljaju prosečne prinose.

Testom najmanje značajne razlike utvrđeno je postojanje razlika između ispitivanih genotipova šećerne repe za sva svojstva i pored suše koja je pogodila region Vojvodine u obe godine istraživanja. U takvim uslovima očekivano je došlo do smanjenja srednjih vrednosti ispitivanih svojstava i umanjenja razlika između ispitivanih oprasivača. S obzirom da je suša bila izraženija tokom 2012. i efekti suše na ispitivana svojstva u toj godini su bili veći. Izmerena masa korena i masa glave tokom 2012. u proseku su bili manji za trećinu u poređenju sa rezultatima iz 2011. godine, dok su kod pojedinih genotipova te vrednosti bile prepolovljene. Sa druge strane sadržaj šećera, sadržaj suve materije i iskorišćenje su bili povećani u proseku za 10%. Prinos kristalnog šećera kao najvažniji pokazatelj kvaliteta genotipa je bio manji u 2012. godini za 20%. I u takvim uslovima razlike su bile značajne za pojedina svojstva, što dokazuje veliku varijabilnost ispitivanog materijala.

Posmatrajući posebno dobijene rezultate za masu korena, uočeno je da su vrednosti koeficijenta varijacije bile veće kod autosterilnih oprašivača, u odnosu na autofertilne, što je u skladu sa istraživanjima Danojević (2010). Ovo je bilo očekivano zbog visokog stepena homozigotnosti kod autofertilnih oprašivača (inbred linije). Takođe visoki koeficijenti varijacije za masu korena nisu iznenađujući, s obzirom na činjenicu da je masa korena svojstvo koje je pod velikim uticajem spoljašnje sredine i pokazuje veliku varijabilnost (Sklenar, 1997; Veselinović i sar. 1997).

Vrednosti mase glave korena pokazale su najveću varijabilnost od svih ispitivanih svojstava korena. Koeficijent varijacije kod pojedinih autosterilnih oprašivača iznosio je i preko 30%, što potvrđuje visoku varijabilnost ovog svojstva ustanovljenu u ranijim istraživanjima (Danojević 2010). Jedan od razloga ovako visoke varijabilnosti je činjenica da ljudski faktor ima veliki uticaj na određivanje mase glave korena. Iako se sečenje glave korena odvija prema SRPS standardu, to nije moguće da se izvede stoprocentno precizno, zbog subjektivnosti prilikom određivanja mesta za sečenje glave korena.

Kvalitet korena procenjen je na osnovu vrednosti sadržaja šećera, sadržaja suve materije i iskorišćenja. U pogledu kvaliteta korena uopšteno posmatrano bolje su se pokazali oprašivači iz kolekcije Odjeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu. Najverovatnije zbog specifičnih meteoroloških uslova u godinama istraživanja i boljoj prilagođenosti tim uslovima, s obzirom da se njihova selekcija odvijala u našem agroekološkom području. Rezultati istraživanja su potvrdili visok sadržaj šećera kod oprašivača CZ25 (Lewellen, 2002). Ovaj oprašivač je nastao ukrštanjem šećernate poljske germplazme i američke populacije iz Salinas programa. Ovim istraživanjem je i potvrđena superiornost u pogledu kvaliteta korena oprašivača FC220 u odnosu na FC221, kako kod samih oprašivača tako i kod ukrštanjem dobijenih hibrida (Panella *et al.*, 2008). Izračunate vrednosti koeficijenta varijacije nisu bile visoke, kao kod mase korena i mase glave korena, jer su i srednje vrednosti ispitivanih svojstava povezanih sa kvalitetom korena bile višestruko manje, samim tim je i koeficijent varijacije bio mnogo manji. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima koje su dobili Stojaković i sar. (1992) i Danojević (2010). Oprašivač EL0204 imao je najveći koeficijent varijacije kod sva tri svojstva u obe godine

ispitivanja i kod njega postoji najviše mesta za napredak u pogledu kvaliteta korena pozitivnom selekcijom.

U pogledu prinosa kristalnog šećera, kao jednog od najvažnijih pokazatelja vrednosti genotipova šećerne repe, bolje su se pokazali oprašivači Ministarstva poljoprivrede SAD. Razlike su bile uočljivije u prvoj godini i izdvojili su se oprašivači EL0204, EL53 iz stanice East Lansing i CZ25 iz stanice Salinas. U drugoj godini istraživanja zbog izuzetne suše došlo je do smanjenja srednjih vrednosti prinosa kristalnog šećera. U takvim uslovima nije bilo značajnih razlika između oprašivača iz domaćeg oplemenjivačkog programa i oprašivača iz oplemenjivačkih stanica Američkog ministarstva poljoprivrede. Razlog za to možemo tražiti u činjenici da se selekcija oprašivača Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u Novom Sadu odvija u agroekološkim uslovima Vojvodine, gde su pojave letnjih suša postale normalna pojava i samim tim ovi oprašivači su prilagođeni uslovima ovog tipa abiotičkog stresa. Treba istaći da nisu svi oprašivači reagovali jednakim smanjenjem prinosa kristalnog šećera. Naprotiv, kod oprašivača NS4 došlo je do povećanja, a kod oprašivača FC220 do smanjenja od 5,2g prinosa kristalnog šećera. Ova činjenica možeda se iskoristi prilikom oplemenjivanja šećerne repe na sušu, jer ako posmatramo tolerantnost na sušu, kao pokazatelj smanjenja prinosa šećera po korenju, ova dva oprašivača su dobro podnela izuzetno stresne uslove tokom 2012. godine.

Primena klaster analize omogućuje prikaz sličnosti i razlika između pojedinih genotipova u zavisnosti odsvojstva koje se analizira. Pri proučavanju velikih kolekcija, koje čine više hiljada populacija i analiza velikog broja svojstava, najčešće se vrši konstrukcija združenog dendrograma (Marjanović-Jeromela, 2005). U ovom istraživanju konstruisan je združeni dendrogram, kao i dendrogram za svako pojedinačno svojstvo. Analiza svakog svojstva posebno pruža informaciju o odnosu između genotipova, pošto srednje vrednosti kao i varijabilnost nekog svojstva direktno utiču na stepen sličnosti ili različitosti (Danojević, 2010). Prilikom konstrukcije pojedinačnih dendrograma korišćene su srednje vrednosti genotipa i pokazatelji varijabilnosti za svako svojstvo. Kod mase korena je došlo do razdvajanja autosterilnih i autofertilnih genotipova, s obzirom na razliku u koeficijentima varijacije između ove dve grupe. Kod drugih svojstava

nije došlo do tako jasnog razdvajanja, a dobijeni dendrogrami su potvrdili da se analizirani genotipovi odlikuju velikom divergentnošću.

Na osnovu zbirnog dendrograma potvrđena je negativna korelacija između mase korena i sadržaja šećera. Ovo se može zaključiti iz načina na koji su se oprasivači podelili u dve grupe. Prvu grupu su činili oprasivači koji su imali veću masu korena i manji sadržaj šećera. Dok su drugu grupu činili oprasivači koji su imali manju masu korena i veći sadržaj šećera. Posebno se izdvojio oprasivač CR10, koji je imao najmanje vrednosti svih ispitivanih svojstava u obe godine istraživanja.

## 7.2. Linija x tester analiza

Analizom varijanse linija x tester metoda potvrđeno je postojanje razlika za sva ispitivana svojstva utvrđenih testom najmanje značajne razlike između oprasivača u 2011. godini. Ipak u 2012. godini nisu utvrđene razlike za masu korena i prinos kristalnog šećera, zbog izuzetne suše i smanjenja ekspresije izvora genetičke varijacije. Posmatrajući testere, analizom varijanse u 2011. godini nisu utvrđene razlike u pogledu kvaliteta korena, dok u ekstremnoj 2012. nije utvrđena samo razlika u prinosu kristalnog šećera. S obzirom da je pravilan izbor testera neophodan za pouzdanost metoda linija x tester, na osnovu rezultata možemo reći da su korišćeni testeri bili dovoljno divergentni između sebe i na taj način omogućili adekvatnu procenu kombinacionih sposobnosti oprasivača.

Ispitivanjem opštih kombinacionih sposobnosti linija za sva svojstva nisu se uočile značajne razlike u pogledu OKS između oprasivača koji su posedovali gene autofertilnosti u odnosu na one koji su bili autosterilni. Posmatrajući porekla ispitivanih oprasivača, uočeno je da su svi oprasivači Instituta za ratarstvo i povrtarstvo imali negativne vrednosti OKS za masu korena u 2011. godini, što je potvrđeno i u 2012. osim u slučaju oprasivača NS1 koji je imao pozitivnu vrednost OKS za masu korena. Ovo ukazuje da bi domaći oprasivači bili pogodnisamo kao roditelji za dobijanje nove genetičke varijabilnosti. Kao stabilan kombinator pokazao se oprasivač FC220, koji je u obe godine istraživanja imao pozitivne vrednosti OKS za sva ispitivana svojstva.

Posmatrajući zajedno vrednosti kvantitativnih svojstava korena i OKS oprašivača uočeno je da male srednje vrednosti pojedinih kvantitativnih svojstava ne znače da će i OKS oprašivača biti male ili negativne. Zbog toga ne treba da se odbacuju genotipovi sa malom prosečnom vrednošću mase korena, odnosno ne treba ih odbacivati pre ispitivanja OKS. Ovo je u skladu sa istraživanjem Danojević *et al.*, (2011). Oni su u svom istraživanju utvrdili da roditelji sa manjim srednjim vrednostima mase korena, mogu da daju hibride sa većom prosečnom vrednošću mase korena.

Ispitivanjem posebnih kombinacionih sposobnosti hibridnih kombinacija, nisu utvrđene visoko značajne pozitivne i negativne vrednosti PKS ispitivanih svojstava u obe godine istraživanja, zbog izuzetne suše koja je pogodila region Vojvodine. Suša je dovela do smanjenja srednjih vrednosti svih ispitivanih svojstava, kod svih hibridnih kombinacija i svela razlike između njih ispod statističke značajnosti.

Ispitivanjem načina nasleđivanja za masu korena, utvrđeno je prisustvo pozitivnog heterozisa u 2011. godini kod svih hibridnih kombinacija gde su roditelji bili autofertilni oprašivači, dok u 2012. heterozis nije zabeležen samo kod kombinacija gde je roditelj bio oprašivač CZ25. Kod većine hibridnih kombinacija gde su polinatori bili autosterilni oprašivači, odnosno populacije slobodne oplodnje, zabeležena je puna dominacija boljeg roditelja. Specifičnost u genetičkoj konstituciji, odnosno različitom stepenu homozigotnosti ove dve grupe oprašivača i metodologija ispitivanja načina nasleđivanja su razlozi za dobijene razlike u pogledu načina nasleđivanja. Veća varijabilnost kod populacija slobodne oplodnje, kako kod roditeljske komponente, tako i kod pojedinih hibridnih kombinacija, uzrokovala je odsustvo značajnih razlika u srednjim vrednostima između hibrida i boljeg roditelja. Zbog velike varijabilnosti mase korena kod hibridne kombinacije NS1xcms1, nije bilo moguće da se utvrdi način nasleđivanja, iako je hibrid imao veću srednju vrednost u odnosu na boljeg roditelja za 26%.

Kako navodi Sklenar (1997), masa korena predstavlja svojstvo koje je pod velikim uticajem faktora spoljne sredine te pokazuje visoku varijabilnost. U ovom istraživanju je ustanovljen veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse u odnosu na aditivnu komponentu za masu korena. Ovi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima većeg broja autora. S obzirom da je heterozis rezultat neaditivnog

delovanja gena, treba stvarati multigerme oprašivače sa dobrim kombinacionim sposobnostima kako bi efekat heterozisa u F<sub>1</sub> generaciji bio veći.

Kod nasleđivanja mase glave korena i obima korena, takođe su utvrđeni načini nasleđivanja bili heterozis i puna dominacija boljeg roditelja. Za razliku od nasleđivanja mase i obima korena, kod nasleđivanja mase glave korena, zbog velike varijabilnosti ovog svojstva nije bilo moguće odrediti način nasleđivanja kod većeg broja hibridnih kombinacija. Heterozis kod mase glave korena i obima korena se uglavnom ispoljio kod hibridnih kombinacija gde su oprašivači bili autofertilni, odnosno inbred linije. Razlozi su potpuno identični kao i za način nasleđivanja mase korena, manja varijabilnost kod autofertilnih oprašivača i njihovog potomstva.

Za masu glave korena utvrđen je veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse u obe godine ispitivanja. Ovo ukazuje na veći značaj dominantnog i epistatičnog delovanja gena na način nasleđivanja mase glave korena. S obzirom da su neaditivni efekti gena odgovorni za heterozis i punu dominaciju, određivanjem načina nasleđivanja za ovo svojstvo to je i potvrđeno. Ovo je u saglasnosti sa rezultatima prethodnih istraživanja (Čačić i sar. 1999; Ćurčić, 2008). Kod obima korena u prvoj godini ispitivanja aditivna komponenta genetičke varijanse je bila veća od neaditivne (dominacija i epistaza), dok je u drugoj godini bilo obrnuto. Može se zaključiti da za nasleđivanje prečnika korena podjednak uticaj ima i aditivna i neaditivna genetička varijansa. Kako na ovo svojstvo podjednak uticaj ima i aditivna i neaditivna komponenta genetičke varijanse, kao najbolji metod implementiranja mogao bi poslužiti metod recipročne rekurentne selekcije. Ovaj metod je dizajniran tako da bude primenljiv u istovremenoj selekciji za obe akcije delovanja gena, aditivnu i neaditivnu, zbog uporedne selekcije između dve genetički različite populacije (Doney and Theurer, 1978). Ipak utvrđen način nasleđivanja kod ovog svojstva (dominacija i heterozis) ne ukazuje na značaj aditivne komponente genetičke varijanse.

Određivanje načina nasleđivanja kod sadržaja šećera, sadržaja suve materije i iskorišćenja šećera utvrđeno je samo kod nekoliko hibridnih kombinacija. Visoka varijabilnost kod autosterilnih oprašivača, kao i male razlike između roditelja i potomstva prouzrokovali su odsustvo značajnih razlika prilikom izvođenja t-testa. Zabeleženi načini nasleđivanja kod ovih svojstava bili su

dominacija boljeg roditelja, dominacija slabijeg roditelja, intermedijarnost i u jednom slučaju negativan heterozis. Sve ovo ukazuje na složenost načina nasleđivanja svojstava povezanih sa kvalitetom korena. Linijaxtester metodom u obe godine ispitivanja utvrđen je veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse, što je u saglasnosti sa prethodnim istraživanjima (Stančić i sar., 1997; Sklenar, 2001). S obzirom da ovom metodom nije moguće razdvojiti dominantnu varijansu od varijanse interakcije (epistaza), utvrđeni načini nasleđivanja ukazuju na veći značaj varijanse interakcije. Suprotno ovim istraživanjima veći značaj aditivne genetičke varijanse za sadržaj šećera utvrdili su Doney and Theurer, (1983), Čačić (1991), Ahmadi and Assad, (1998). Veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse u ovom istraživanju je najverovatnije uslovljen vremenskim uslovima, jer je tokom suše u drugom delu vegetacije došlo do povećanja sadržaja šećera kod hibridnih kombinacija, tako da je on bio na nivou boljeg roditelja.

Ispitivanjem načina nasleđivanja prinosa kristalnog šećera ustanovljeni su heterozis i puna dominacija boljeg roditelja. Kao i kod prethodnih svojstava, kod izvesnog broja kombinacija nije bilo moguće odrediti način nasleđivanja. Razlog je identičan kao i u prethodnim slučajevima, visoka varijabilnost ovog svojstva, pogotovo u prvoj godini istraživanja. Heterozis je ponovo utvrđen u kombinacijama između autofertilnih opašivača i cms linija.

Linijaxtester analizom utvrđen je veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse u obe godine ispitivanja. Ovo nije iznenadujuće s obzirom da je prinos kristalnog šećera izvedeno svojstvo od mase korena i iskorišćenja šećera, kod kojih je u obe godine istraživanja utvrđen veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse.

### 7.3. Molekularne analize

Utvrđivanje genetičke divergentnosti oplemenjivačkog materijala je neophodno za kvalitetan izbor roditeljskih parova prilikom ukrštanja. Moderno oplemenjivanje može da dovede do smanjenja genetičke varijabilnosti koja se ogleda kroz manju frekvenciju ili gubitak pojedinih alela. Danas se intenzivno

koriste molekularni markeri u svrhu utvrđivanja genetičke divergentnosti, jer isključuju subjektivnost prilikom ocenjivanja morfoloških svojstava, kao i uticaj spoljašnje sredine na kvantitativna svojstva.

Korišćenjem 40 mikrosatelitskih markera amplifikovano je 129 alela kod 14 ispitivanih populacija, od 2 do 6 po lokusu, prosečno po mikrosatelu 3,225, prosečne PIC vrednosti 0,465. U pogledu broja alela po lokusu ova istraživanja su u skladu sa istraživanjima Smulders *et al.*, (2010). Oni su u svom istraživanju korišćenjem 25 SSR markera po lokusu umnažali između 1,95 i 3,74 efektivna alela. Prema istraživanju Richards *et al.*, (2004), koji su ispitivali tri populacije šećerne repe, broj umnoženih alela po lokusu se kretao od 2 do 11, visoke heterozigotnosti i indeksa polimorfne informacije. Rezultatima iz ovog istraživanja potvrđene su vrednosti u pogledu broja alela, heterozigotnosti i indeksa polimorfne informacije za ispitivane zajedničke mikrosatelite. U istraživanjima Simko *et al.*, (2012) broj alela po lokusu se kretao od 2 do 9, sa prosekom od 4,3, pri čemu je PIC vrednost iznosila čak 0,59. Razlog za veću PIC vrednost treba da se traži u broju ispitivanih genotipova i njihovom poreklu. Oni su koristili 54 genotipa dobijena od strane 5 komercijalnih semenskih kompanija, dok je u ovom istraživanju korišćeno 14 genotipova šećerne repe. Analizom pedigreea ispitivanog materijala je utvrđeno da pojedini genotipovi imaju zajedničke pretke, što predstavlja dodatan razlog za smanjenje PIC vrednosti.

Ispitivani multigerjni oprasivači šećerne repe razlikovali su se u pogledu prisustva gena autofertilnosti, što se odrazilo i na vrednosti heterozigotnosti. Oprasivači koji su posedovali gene autofertilnosti imali su očekivano manju vrednost heterozigotnosti u odnosu na autosterilne oprasivače, čime su potvrđeni rezultati istraživanja McGrath *et al.*, (1999). Vrednosti heterozigotnosti u istraživanju su takođe očekivano bile manje od onih koje su dobili Fénart *et al.*, (2008). Razlog je ispitivani materijal, jer su oni koristili genotipove divljih srodnika šećerne repe, koji su bili varijabilniji. Oni u svom istraživanju nisu utvrdili heterozigotnost genotipova šećerne repe, zbog malog broja individua koje su imali na raspolaganju. Heterozigotnost u ovom istraživanju je bila manja od heterozigotnosti koju su u svojim istraživanjima na različitim genotipovima šećerne repe utvrdili McGrath *et al.*, (1999), Poulsen *et al.*, (2007) i Nagl *et al.*, (2011). Razlog za postojanje ove razlike može biti tip korišćenih markera u istraživanju,

pošto su McGrath *et al.*, (1999) i Nagl *et al.*, (2011) koristili RAPD markere, a Poulsen *et al.*, (2007) AFLP markere. Oba tipa ovih markera pripadaju dominantnim markerima. Ovo objašnjenje dobija još veći smisao činjenicom da je heterozigotnost u ovom istraživanju bila na nivou heterozigotnosti u istraživanjima Andersen *et al.*, (2005), Li *et al.*, (2010). Njihove studije genetičke divergentnosti šećerne repe su bile bazirane na SSR markerima.

Pošto su u istraživanju korišćene populacije slobodne oplodnje očekivane su veće vrednosti posmatrane heterozigotnosti kod pojedinih populacija, što nije zabeleženo u ovom istraživanju. Trend smanjenja heterozigotnosti u okviru germplazme šećerne repe delom je rezultat selekcije na otpornost prema bolestima u okviru uske genetičke osnove repe, a delom korišćenjem recessivnih svojstava neophodnih za semensku proizvodnju šećerne repe širom sveta (McGrath *et al.*, 1999).

Pomoću AMOVA procenjena je varijabilnost unutar i između ispitivanih populacija šećerne repe, pri čemu je utvrđen veoma visok udio genetičke varijabilnosti u okviru samih populacija, što je u skladu sa istraživanjima Abassi *et al.*, (2012). Suprotno ovim istraživanjima Fénart *et al.*, (2008) su utvrdili veću genetičku divergentnost između ispitivanih populacija nego unutar njih, što je najverovatnije posledica činjenice da su u istraživanju korišćeni varijeteti potpuno različitog porekla, od gajene šećerne repe do divljih formi. Sa druge strane u ovom istraživanju kao i u istraživanju Abassi *et al.*, (2012) ispitivani materijal sačinjavale su samo populacije gajene šećerne repe, u okviru kojih su bile populacije slobodne oplodnje, kod kojih je pojava samooplodnje retka, samim tim je i varijabilnost unutar populacija velika.

S obzirom da AMOVA ukazuje samo na činjenicu da li postoje razlike između populacija ili ne, kako bi utvrdili poreklo značajnih razlika izvršena su višestruka poređenja i kreirana je matrica  $\Phi_{ST}$  vrednosti za svako poređenje odgovarajuće vrednosti verovatnoće. Na osnovu matrice  $\Phi_{ST}$  vrednosti između proučavanih populacija i primenom *Neighbour-joining* algoritma konstruisan je dendrogram, gde su ispitivane populacije podeljene u šest grupa. Prve dve grupe su činili opršivači iz oplemenjivačkog programa Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, kojima se priključio opršivač CZ25 iz oplemenjivačkog programa stanice Salinas, Ministarstva poljoprivrede SAD. Ovo

nije iznenađujuće, ako se zna poreklo oprašivača CZ25, odnosno da polovinu germplazme oprašivača CZ25 čini poljski oprašivač visokog sadržaja šećera (Lewellen, 2002), i ako imamo u vidu činjenicu da oprašivači Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo u svom pedigreeu imaju i porekla iz evropskih oplemenjivačkih programa. Oprašivači FC220, FC221 i C51 formirali su narednu grupu. Iako potiču iz različitih oplemenjivačkih stanica Ministarstva poljoprivrede SAD, proučavanjem pedigreea oprašivača FC220 i FC221 dolazimo do saznanja da imaju deo germplazme poreklom od oprašivača C51, što možemo reći da je i potvrđeno ovim istraživanjem (Lewellen, 2000; Lewellen, 2006; Panella *et al.*, 2008). Oprašivači CR10 i C930-35 iz stanice Salinas, formirali su novu grupu. Oba ova oprašivača poseduju gene autofertilnosti (Lewellen, 2004; Lewellen, 2006). Oprašivači EL0204 i EL53 iz stanice East Lansing čije je posebno svojstvo gladak koren (McGrath and Lewellen, 2004; McGrath, 2006), formirali su još jednu grupu. Analizom pedigreea oprašivača EL53 (McGrath, 2006) vidimo da 9% germplazme ovog oprašivača vodi direktno poreklom od oprašivača EL0204. Posebnu grupu su formirali majčinske komponente cms1 i cms2, što je isto bilo očekivano, jer su u pitanju monogermlni genotipovisa citoplazmatskom sterilnošću iz programa Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo.

S obzirom da se klaster analiza i ordinacioni metodi nadopunjaju u interpretaciji odnosa između individua prilikom procene diverziteta biljnih genetičkih resursa, jer imaju različite teorijske osnove, sličnosti u dobijenim rezultatima za oba pristupa mogu da se koriste kao empirijska mera tačnosti (Laurentin and Karlovsky, 2006). Radi potvrde rezultata klaster analize urađena je korespondentna analiza. Korespondentna analiza predstavlja ordinacioni metod zasnovan na sličnosti između individua baziranih na  $\chi^2$  udaljenosti, koji je osjetljiviji u otkrivanju sličnosti na osnovu retkih alela koje deli nekoliko genotipova (Beebe *et al.*, 2000). Rezultati korespondentne analize bili su vrlo slični grupisanju pomoću *Neighbour-joining* algoritma. Broj grupa je smanjen za jednu, zbog toga što je došlo do spajanja prve dve grupe dobijene klaster analizom. Svi oprašivači Odeljenja za šećernu repu, Instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, i oprašivač CZ25 su se grupisali u samom centru prikazanog dvo-dimenzionog prostora. Njima se priključila jedna cms (cms1) linija iz domaćeg oplemenjivačkog programa. Ostali oprašivači poreklom iz različitih programa Ministarstva

poljoprivrede SAD su se potpuno identično grupisali, kao i kod konstruisanja *Neighbour-joining* dendrograma.

#### **7.4. Korelaciјe**

Poređenja genetičke udaljenosti izračunate na osnovu molekularnih podataka sa efektom heterozisa i kombinacionim sposobnostima najviše su proučavana kod kukuruza. Na osnovu pojedinačnih analiza hibridnih kombinacija u ovom istraživanju nisu utvrđene korelaciјe između genetičke udaljenosti i vrednosti posebnih kombinacionih sposobnosti. Osnovni razlog za to je ispitivani materijal, koji je bio izuzetno heterogen. Ovim rezultatom je potvrđena pretpostavka da su procene genetičke udaljenosti na osnovu podataka dobijenih molekularnim markerima mnogo efikasnije za predviđanje hibridnih performansi između blisko povezanih inbred linija, nego u ukrštanjima udaljenih inbred linija (Melchinger, 1999).

## **8. ZAKLJUČAK**

Na osnovu dobijenih rezultata u ovim istraživanjima mogu se izvesti sledeći zaključci:

Između ispitivanih genotipova šećerne repe ustanovljene su visoko značajne razlike u srednjim vrednostima za sva ispitivana svojstva.

Vremenski uslovi, odnosno suša tokom drugog dela vegetacije u obe godine istraživanja uticala je na smanjenje srednjih vrednosti ispitivanih svojstava kod populacija šećerne repe, umanjujući razlike između ispitivanih populacija kod svih kvantitativnih svojstava.

Posmatrajući OKS za sva svojstva došlo je do izdvajanja dva opašivača. Opašivač FC220 se izdvojio kao potencijalno stabilan kombinator u obe godine istraživanja, beležeći pozitivne vrednosti OKS za sva ispitivana svojstva. Sa druge strane opašivač EL53 je u obe godine istraživanja beležio negativne vrednosti OKS za sva ispitivana svojstva.

U nasleđivanju mase korena, mase glave korena, obima korena i prinosa kristalnog šećera, manifestovali su se heterozis i dominacija boljeg roditelja. Što je potvrđeno i analizom komponenti genetičke varijanse, gde je glavnu ulogu u nasleđivanju ispitivanih svojstava imala neaditivna komponenta.

U pogledu nasleđivanja svojstava vezanih za kvalitet korena ispoljila se dominacija boljeg roditelja, dominacija lošijeg roditelja, intermedijarnost i negativan heterozis. Analizom komponenti genetičke varijanse i kod ovih svojstava je utvrđen veći značaj neaditivne komponente genetičke varijanse. S obzirom da linijaxtester metodom nije moguće razdvojiti dominantnu varijansu od varijanse interakcije, različiti načini nasleđivanja za ova svojstva ukazuju na potencijalno veći značaj varijanse interakcije u nasleđivanju ovih svojstava.

Kod ispitivanih multigermnih opašivača šećerne repe u pogledu načina nasleđivanja superiornost su pokazali autofertilni polinatori u odnosu na populacije slobodne oplodnje. Veći stepen homozigotnosti i uniformnost F<sub>1</sub> generacije doveli

su do ispoljavanja efekta heterozisa kod hibridnih kombinacija gde su roditelji bili autofertilni polinatori.

Na osnovu načina grupisanja multigermnih oprašivača u zbirnom klastru, potvrđena je negativna korelacija između mase korena i sadržaja šećera. U okviru jedne grupe su se našli oprašivači sa velikom masom korena i nižim sadržajem šećera, a u drugoj grupi sa malom masom korena i višim sadržajem šećera.

AMOVA je pokazala da je najveći deo varijabilnosti bio unutar ispitivanih populacija šećerne repe, dok je manji deo varijabilnosti bio između populacija, zbog genetičke konstitucije ispitivanog materijala, gde su većinu činile populacije slobodne oplodnje.

Analizom međusobnih odnosa multigermnih oprašivača šećerne repe pomoću SSR markera konstruisan je dendrogram u kome su se oprašivači podelili u četiri grupe, shodno centrima porekla iz kojih su dobijeni.

Između genetičke udaljenosti i PKS nisu ustanovljene korelacije. Rezultati ukazuju da bi za predviđanje heterozisa i PKS trebalo da se izvrši analiza za svaku tester liniju i za svako svojstvo pojedinačno.

## 9. LITERATURA

- Abbasi, Z., Arzani, A., Majidi, M., Nachtigall, M. and Frese L. (2012): Assessment of genetic diversity by SSR markers in sugar beet in the context of breeding for salt tolerance. Report of a Working Group on *Beta* and the World *Beta* Network, Fourth Joint Meeting, 20-22 June 2012, Cappelle-en-Pévèle, France.
- Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H. (2008): Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. Plant Cell Rep 27: 617-631.
- Ahmadi, M. and Assad, M. T. (1998): Estimating genetic parameters of agronomic and quality traits in a diallel cross of sugar beet. Iran Agricultural Research 17: 19-34.
- Ajmone-Marsan, P., Castiglioni, P., Fusari, F., Kuiper, M. and Motto, M. (1998): Genetic diversity and its relationship to hybrid performance in maize as revealed by RFLP and AFLP markers. Theor Appl Genet 96: 219-227.
- Anaščenko, A. V., Rožkova, V. T. i Mileeva, T. V. (1975): Rezultati izučenija heterozisa u podsolnečnika. Trudi po prikladnoj botanike, genetike i selekcii 55: 134-142.
- Andersen, N. S., Siegismund, H. R., Meyer, V. and Jorgensen, R. B. (2005): Low level of gene flow from cultivated beets (*Beta vulgaris* L. ssp *vulgaris*) into Danish populations of sea beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *maritima* (L.) Arcangeli). Mol Ecol 14: 1391–1405.
- Arnaud, J. F., Viard, F., Delescluse, M. and Cuguen, J. (2003): Evidence for gene flow via seed dispersal from crop to wild relatives in *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae): consequences for the release of genetically modified crop species with weedy lineages. Proc R Soc Lond 1524: 1565–1571.
- Arnaud, J. F., Fénart, S., Gode, C., Deledicque, S., Touzet, P. and Cuguen, J. (2009): Fine-scale geographical structure of genetic diversity in inland wild beet populations. Mol Ecol 18: 3201–3215.
- Baker, R.J. (1978): Issues in diallel analysis. Crop Sci 18: 533-536.

- Bartsch, D., Lehnert, M., Clegg, J., Pohl-Orf, M., Schuphan, I. and Ellstrand, N. C. (1999): Impact of gene flow from cultivated beet on genetic diversity of wild sea beet populations. *Mol Ecol* 8: 1733–1741.
- Barzen, E., Mechelke, W., Ritter, E., Seitzer, J. F. and Salamini, F. (1992): RFLP markers for sugar beet breeding: chromosomal linkage maps and location of major genes for rhizomania resistance, monogermy and hypocotyl colour. *Plant J* 2: 601-611.
- Barzen, E., Mechelke, W., Ritter, E., Schulte-Kappert, E. and Salamini, F. (1995): An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RAPD loci. *Theor Appl Genet* 90: 189–193.
- Barzen, E., Stahl, R., Fuchs, E., Borchardt, D. and Salamini, F. (1997): Development of coupling-repulsion-phase SCAR markers diagnostic for the sugar beet Rr1 allele conferring resistance to rhizomania. *Mol Breed* 3: 231–238.
- Beebe, S., Skroch, P., Tohme, J., Duque, M., Pedraza, F. and Nienhuis, J. (2000): Structure of genetic diversity among common landraces of middle American origin based on correspondence analysis of RAPD. *Crop Sci* 40:264–273.
- Bernardo, R. (1992): Relationships between single-cross performance and molecular markers heterozygosity. *Theor Appl Genet* 83: 628-634.
- Betran, F.J., Ribaut, J.M., Beck, D.L. and Gonzalez de Leon, D. (2003): Genetic diversity, specific combining ability, and heterosis in tropical maize under stress and non stress environments. *Crop Sci* 43: 797-806.
- Borojević, S. (1965): Način nasleđivanja i heritabilnost kvantitativnih svojstava u ukrštanjima raznih sorti pšenice. *Savremena poljoprivreda* 13: 587-606.
- Borojević, S. i Borojević, K. (1976): Genetika. Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Borojević, S. (1981): Principi i metodi oplemenjivanja biljaka. R. Ćirpanov, Novi Sad.
- Botstein, D., White, R., Skolnick, M. and Davis, R. (1980): Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am J Hum Genet* 32:314–331
- Bosemark, N.O. (1971): Use of Mendelian male sterility in recurrent selection and hybrid breeding in beets. 127–136. In Report of Meeting of the EUCARPIA Fodder Crops Section, Lusigan, France. 14–16 Sept. 1970.

- Bosemark, N. O. (1989): Prospects for beet breeding and use of genetic resources, Report of an International Workshop on Beta Genetic Resources, International Crop Network Series 3, International Board for Plant Genetic Resources, Rome, Italy.
- Bosemark, N. (1993): Genetics and breeding. In „The sugar beet crop“ (D. A. Cooke and R. K. Scott, Eds.), 67-119, Chapman and Hall, London.
- Boudry, P., Wieber, R., Saumitou-Laprade, P., Pillen, K., Van Dijk, H. and Jung, C. (1994): Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene B and their significance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 88: 852–858.
- Brennan, J. P. and Martin, P. J. (2007): Returns to investment in new breeding technologies. *Euphytica* 157: 337-349.
- Bussel, J. (1999): The distribution of random amplified polymorphicDNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae). *Mol Ecol* 8:775–789.
- Cao, W. G., Hucl, P., Scoles, G. and Chibbar, R. N. (1998): Genetic diversity within spelta and macha wheats based on RAPD analysis. *Euphytica* 104: 181–189.
- Cureton, A., Burns, M., Ford-Lloyd, B. and Newbury, H. (2002): Development of simple sequence repeat (SSR) markers for the assesment of gene flow between sea beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) populations. *Mol Ecol Note* 2: 402–403.
- Čačić, N. (1991): Nasleđivanje proizvodnih svojstava i karakteristika lista u dialelnim ukrštanjima šećerne repe. Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Čačić, N., Kovačev, Mezei, Snežana, Sklenar, P. i Nagl, Nevena (1999): Način nasleđivanja i kombinirajuće sposobnosti nekih svojstava šećerne repe (*Beta vulgaris* L.). Zbornik radova Naučnog instituta za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad 32: 137-147.
- Ćurčić, Ž. (2008): Uticaj izvora otpornosti prema rizomaniji na kombinacione sposobnosti i kvantitativna svojstva šećerne repe. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Danojević, D. (2010): Karakteristike monogermnih i multigerminih genotipova šećerne repe. Magistarski rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

- Danojević, D., Čurčić, Ž., Nagl, N. and Kovačev, L. (2011): Correlations of Root Traits in Monogerm Sugar Beet from Open Pollination and Their Variability. Field and Vegetable Crops Research, 48: 333-340.
- Davis, R. L. (1927): Report of the plant breeder. Rep. Puerto Rico Agric. Exp. Stn. 14-15.
- Dawson, I., Simons, A., Waugh, R. and Powell, W. (1995): Diversity and genetic differentiation among subpopulations of *Gliricidia sepium* revealed by PCR-based assays. Heredity 74:10–18.
- Dolotij L. A., Ševcov I. A., Parij F. N. (1984): Primerenie različnih testerov dlja ocenki obšei kombinacionnoi sposobnosti inbrednih linii saharnoj svekli. Citologija i genetika 18: 97-101.
- Doney, D. L. and Theurer, J. C. (1978): Reciprocal recurrent selection in sugarbeet. Field crops research. 1: 173-181.
- Doney, D. L. and Theurer, J. C. (1983): Genetics of cell size and sucrose concentration in sugarbeet. Crop Sci. 23, 5: 904-907.
- Drinic, S.M., Trifunovic, S., Drinic, G. and Konstantinov, K. (2002): Genetic divergence and its correlation to heterosis in maize as revealed by SSR-based markers. Maydica 47: 1-8.
- El-Mezawy, A., Dreyer, F., Jacobs, G. and Jung, C. (2002): High-resolution mapping of the mapping gene B of sugar beet. Theor Appl Genet 105: 100–105.
- Excoffier, L., Smouse, P. and Quattro, G. (1992): Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131: 479–491.
- Excoffier, L., Laval, G. And Schneider, S. (2005): Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol Bioinf Online 1: 47–50.
- Felstein, J. (1989): PHYLIP Phylogeny Inference Package. Cladistics 5: 164–166.
- Fénart, S., Arnaud, J., Cauwer, I. D. and Cuguen, J. (2008): Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: new insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species. Theor Appl Genet 116: 1063–1077.
- Fischer, H. E. (1989): Origin of the ‘Weisse Schlesische Rübe’ (white Silesian beet) and resynthesis of sugar beet. Euphytica 41: 75-80.

- Friesen, T. L., Weiland, J. J., Aasheim, M. L., Hunger, S., Borchardt, D. C. and Lewellen, R. T. (2006): Identification of a SCAR marker associated with Bm, the beet mosaic virus resistance gene, on chromosome 1 of sugar beet. *Plant Breeding* 125: 167-172.
- Gower, J. (1966): Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53:325–338.
- Hai, L., Wagner, C. and Friedt, W. (2007): Quantitative structure analysis of genetic diversity among spring bread wheats (*Triticum aestivum* L.) from different geographical regions. *Genetica* 130:213–225
- Hagihara, E., Itchoda, N., Habu, Y., Iida, S., Mikami, T. and Kubo, T. (2005): Molecular mapping of a fertility restorer gene for Owen cytoplasmic male sterility in sugar beet. *Theor Appl Genet* 111: 250–255.
- Hallauer, A.R. and Miranda, J.B. (1988): Quantitative Genetics in Maize Breeding. 2nd ed.Iowa State University Press, Iowa, Ames. USA.
- Halldén, C., Hansen, M., Nilsson, N.-O., Hjerdin, A. and Säll, T. (1996): Competition as a source of errors in RAPD analysis. *Theor Appl Genet* 93: 1185-1192.
- Hansen, M., Halldén, C. and Säll, T. (1998): Error rates and polymorphism frequencies for three RAPD protocols, *Plant Mol Biol Rep* 16: 139–146.
- Hecker, R. J. (1967): Evaluation of three sugarbeet breeding methods. *J Amer Soc Sugar Beet Technol* 14: 309–318.
- Heider, B., Andersson, M. and Shultz-Kraft, R. (2007): RAPD variation among north Vietnamese *Flemingia macrophylla* (Willd.) Kuntze ex Merr. accessions. *Biodivers Conserv* 16:1617–1631.
- Helmerick, R. H., Finkner, R. E. and Doxtator, C. W: (1963): Variety Crosses in Sugar Beets (*Beta vulgaris* L.) I. Expression of Heterosis and Combinig Ability. *J Amer Soc Sugar Beet Technol* 13: 574-584.
- Heun, M. and Helentjaris, T. (1993): Inheritance of RAPDs in F<sub>1</sub> hybrids of corn. *Theor Appl Genet* 85: 961–968.
- Hill, M. O. and Gauch, H. G. (1980): Detrended correspondence analysis, an improved ordination technique. *Vegetatio* 42: 47-58.
- Hjerdin-Panagopoulos, A. (2003): Application of molecular markers in sugar beet breeding. Dissertation, Lund University, Sweden.
- Jolliffe, I. (2002): Principal Component Analysis. Springer-Verlag, 2nd edition.

- Kambal, A. E. and Webster, O. S. (1965): Estimates of general and specific combining abilityin grain sorghum. *Crop Sci* 5: 521-523.
- Kimura, M. and Crow, J. (1964): The number of alleles that can be maintained in a finite population.*Genetics* 49: 725–738.
- Kiula, B. A., Lyimo, N. G. and Botha, A.-M. (2008): Association between AFLP-based geneticdistance and hybrid performance in tropical maize. *Plant Breeding* 127: 140-144.
- Kovačev, L. (1985): Ispitivanje kombinacionih sposobnosti roditeljskih komponenata i osobine F<sub>1</sub> generacije monogermnih triploidnih hibrida šećerne repe. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Kruskal, J. (1964): Nonmetric multidimensional scaling: anumerical method. *Psychometrika* 29:28–42.
- Larsen, K. (1977): Self-incompatibility in *Beta vulgaris* L. I. Four gametophytic, complementary S-loci in sugar beet. *Hereditas* 85: 227-248.
- Laurent, V., Devaux, P., Thiel, T., Viard, F., Mielordt, S., Touzet, P. and Quillet, M. C. (2007): Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome. *Theor Appl Genet* 115: 793-805.
- Laurentin, H. (2009): Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genet Resour Crop Evol* 56: 277-292.
- Laurentin, H. and Karlovsky, P. (2006): Genetic relationship anddiversity in a sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasmcollection using amplified fragment lenght polymorphism(AFLP). *BMC Genet* 7:10.
- Lee, M. (1995): DNA markers and plant breeding programs. *Adv Agro* 55: 265-344.
- Legesse, B.W., Myburg, A.A., Pixley, K.V., Twumasi-Afriye, S.and Botha, A.M. (2008): Relationship between hybrid performance and AFLP based genetic distance inhighland maize inbred lines. *Euphytica* 162: 313-323.
- Lexander, K. (1985): *Beta vulgaris* L. In: Halevy A. H. (ed.), *Handbook of flowering*. CRC Press, 24-32.
- Lewellen, R. T. (2000): Registration of Rhizomania Resistant Sugarbeet x *Beta vulgaris* subsp. *maritima* Germplasms C26, C27 and C51. *Crop Sci* 40: 1512-1513.

- Lewellen, R. T. (2002): Registration of High Sucrose, Rhizomania Resistant Sugarbeet Germplasm Line CZ25-9. *Crop Sci* 42: 320-321.
- Lewellen, R.T. (2004): Registration of Sugarbeet Germplasm Lines C927-4, C929-62, C930-19, and C930-35 with Resistance to Rhizomania, Virus Yellows, and Bolting. *Crop Sci* 44: 359-361.
- Lewellen, R.T. (2006): Registration of C931, C941, CR11, and CZ25/2self-fertile, genetic-male-sterile facilitated, random-mated, sugarbeet germplasm populations. *Crop Sci* 46:1412–1413.
- Li, J., Schulz, B. and Stich, B. (2010): Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers. *Euphytica* 175: 35–42.
- MacLachlan, J. B. (1972): Estimation of genetic parameters in population of monogerm sugar beet (*Beta vulgaris*). *Ir J Agric Res*11: 237-246.
- Marinković, R., Dozet, B. i Vasić, Dragana (2003): Oplemenjivanje suncokreta. Školska knjiga, Novi Sad.
- Marjanović-Jeromela, A. (2005): Genetička divergentnost i varijabilnost komponenti prinosa semena uljane repice (*Brassica napus* L.). Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Matsouka, Y., Mitchell, S.E., Kresovich, S., Goodman, M. and Doebley, J. (2002): Microsatellitein *Zea* - variability, patterns of mutations and use for evolutionary studies. *Theor Appl Genet* 104: 436-450.
- McGrath, M., Derrico, A. and YU, Y. (1999): Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *maritima*. *Theor Appl Genet* 98: 968-976.
- McGrath, J. M. and Lewellen, R.T. (2004): Registration of EL0204 Sugarbeet Germplasm with Smooth-Root and Resistance to Rhizomania. *Crop Sci*, 44: 1032-1033.
- McGrath, J. M. (2005): Sugar Content, Root Weight and Sugar Yield. In: Biancardi E. et al., (eds), *Genetics and Breeding of Sugar Beet*. Science Publishers Inc, Enfield, NH, USA, 119-122.
- McGrath, J. M. (2006):Registration of EL53 Sugarbeet Germplasm with Smooth-Root and Moderate Resistance to Rhizoctonia Crown and Root Rot. *Crop Sci* 46: 2334-2335.

- McGrath, J. M., Trebbi, D., Fenwick, A., Panella, L., Schultz, B., Laurent, V., Barnes, S. and Murray, S. (2007): An open-source first-generation molecular genetic map from a sugar beet x table beet cross and its extension to physical mapping. *Plant Genome*, a Supp to *Crop Sci* 47: S27–S44.
- McGrath, J. M. (2010): Assisted Breeding in Sugar Beets. *Sugar Tech*, 12 (3-4): 187-193.
- Melchinger, A. E., Messmer, M. M., Lee, M., Woodman W. L. and Lamkey. K. R. (1991): Diversity and relationships among U.S. maize inbreds revealed by restriction length polymorphisms. *Crop Sci* 31: 669-678.
- Melchinger, A.E. (1993): Use of RFLP Markers for Analysis of Genetic Relationships among Breeding Materials and Prediction of Hybrid Performance. In: Buxton, D. R., Shibles, R., Forsberg, R.A., Blad, B. L., Asay, K. H., Paulson, G. M., Wilson, R. F. (Eds.), International Crop Science. Crop Science Society of America (CSSA): Madison, WI, USA, 621-628.
- Melchinger, A. E. (1999): Genetic diversity and heterosis. In: The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops. (J.G. Coors and S. Pandey, Eds), 99-118, ASA, CSS, and SSSA, Madison, Wisconsin.
- Moll, R.H., Lonquist, J.H., Foreuno, J.V., and Johnson, E.C. (1965): The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. *Genetics* 52: 139-144.
- Nagi, N., Taški-Ajduković, K., Popović, A., Ćurčić, Ž., Danojević, D. and Kovačev, L. (2011): Estimation of genetic variation among related sugar beet genotypes by using RAPD. *Genetika* 43: 575-582.
- Nei, M. (1973): Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 70: 3321–3323.
- Nei, M. (1978): Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89:583–590.
- Ober, E. S. and Luterbacher, M. C. (2002): Genotypic variation for drought tolerance in *Beta vulgaris*. *Ann Bot* 89: 917-924.
- Owen, F. (1942): Inheritance of cross-and self-sterility and self-fertility in *Beta vulgaris*. *J Agric Res* 64: 679-698.

- Owen, F. (1945): Cytoplasmically inherited male-sterility in sugar beets. *J Agric Res* 71: 423-440
- Owen, F. (1954): Hybrid sugar beets made by utilizing both cytoplasmic and Mendelian male sterility. *Proc Am Soc Sugar Beet Technol* 8:64.
- Parentoni, S.N., Magalhaes, J.V., Pacheco, C.A.P., Santos, M.X., Abadie, T., Gama,E.E.G., Guimaraes, P.E.O., Meirelles, W.F., Lopes, M.A., Vasconcelos, M.J.V. and Paiva, E. (2001): Heterotic groups based on yield-specific combining ability data and phylogenetic relationship determined by RAPD markers for 28 tropical maize openpollinated varieties. *Euphytica* 121: 197-208.
- Panella, L. and Lewellen, R. T. (2007): Broadening the genetic base of sugar beet: Introgression from wild relatives. *Euphytica* 154: 383–400.
- Panella, L., Lewellen, R. T. and Hanson, L. E. (2008): Breeding for multiple disease resistance in sugarbeet: Registration of FC220 and FC221. *J Plant Reg* 2: 146-155.
- Poulsen, G., Holten, C. and von Bothmer, R. (2007): AFLP similarities among historic Danish cultivars of fodder beet (*Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *rapacea* Koch). *Genet Resour Crop Evol* 54:1105–1115.
- Rae, S., Aldam, C., Dominguez, I., Hoebrechts, M., Barnes, S. and Edwards, K. (2000): Development and incorporation of microsatellite markers into the linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Theor Appl Genet* 100: 1240–1248.
- Reinefeld E., Emmerich A., Baumgarten G., Winner C., Beiss U. (1974): Zur Voraussage des melassezukers aus rubenanalysen. *Zuker*, 27: 2–15.
- Richards, C., Brownson, M., Mitchell, S., Kresovich, S. and Panella, L. (2004): Polymorphic microsatellite markers for inferring diversity in wild and domesticated sugar beet (*Beta vulgaris*). *Mol Ecol Notes* 4: 243.
- Rojas, B.A. and G.F. Sprague. 1952. A comparison of variance components in corn yield trials: III. General and specific combining ability and their interaction with locations and years. *Agronomy Journal* 44: 462-466.
- Roldán-Ruiz, I., Dendauw, J., van Bockstaele, E., Depicker, A. and DeLoose, M. (2000): AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrass (*Lolium* spp.). *Mol Breed* 6:125–134.

- Roundy, T. and Theurer, J. (1974): Linkage and inheritance studies involving an annual pollen restorer and other genetic characters in sugar beets. *Crop Sci* 14: 230–232.
- Schoen, D. J. and Cheliak, W. M. (1987): Genetics of the polycross. *Theor Appl Genet* 74: 554-559.
- Scholten, O., Klein-Lankhorst, R., Esselink, D., De Bock, T. and Lange, W. (1997): Identification and mapping of random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers linked to resistance against beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in *Beta* accessions. *Theor Appl Genet* 94: 123–130.
- Schondelmaier, J., Steinrücken, G. and Jung, C. (1996): Integration of AFLP markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Plant Breed* 115: 231–237.
- Schug, M.D., Hutter, C.M. and Wetterstr, K.A.(1998): The mutation rate of di, tri, and tetranucleotiderepeats in *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution* 15:1751-1760.
- Shannon, C. and Weaver, W. (1949): The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.
- Singh, R. K. and Chaudhary, B. D. (1976): Biometrical Techniques in Genetics and Breeding. International Bioscience Publishers, Hisar (India).
- Simko, I., Eujayl, I. and van Hintum, T. J. L. (2012): Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into populations. *Plant Sci* 184: 54-62.
- Sklenar, P. (1997): Adaptabilnost i stabilnost sorata šećerne repe u različitim agroekološkim uslovima gajenja. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Sklenar, P. (2001): Efekat gena i način nasleđivanja osobina korena kod F1 hibrida šećerne repe (*Beta vulgaris* L.) različitog nivoa ploidnosti. Doktorska disertacija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Smith, G. A., Hecker, R. J., Maag, G. W. and Rasmuson, D. W. (1973): Combining ability and gene action estimates in an eight parent diallel cross of sugarbeet. *Crop Sci* 13: 312-316.
- Smith, J. S. C. and Smith, O. S. (1989): The description and assessment of distances between inbred lines of maize: II. The utility of morphological,

- biochemical and genetic descriptors and a scheme of testing of distinctiveness between inbred lines. *Maydica* 34: 151-161.
- Smith, J. S. C. and Smith, O. S. (1992): Fingerprinting crop varieties. *Adv Agro* 47: 85-140.
- Smulders, M.J.M., Esselink, G.D., Everaert, I., De Riek, J. and VosmanB. (2010): Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp.*vulgaris*) varieties using microsatellite markers. *BMC Genetics* 11: 41.
- Soleimani, V. D., Baum, B. R. and Johnson, D. A. (2002): AFLP and pedigree based genetic diversity estimates in modern cultivars of durum wheat [*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) Husn.]. *Theor Appl Genet* 104: 350–357.
- Somma (2004): Extraction and purification of DNA. In: M Querci, M Jermini, G Van den Eade (eds.), The analysis of food samples for the presence of genetically modified organisms, special publication 1.03.114 ed. European Commission, Joint Research Centre: Ispra, Italy, Ch. 4.
- Sprague, G. F. and Tatum, L. A. (1942): General versus specific combining ability in singlecrosses of maize. *Journal of the American Society of Agronomy* 34: 923-932.
- Stančić, I., Nikolić, Ž., Veselinović, Z. i Živić, J. (1997): Ispitivanje kombinacionih sposobnosti roditeljskih komponenata kod diploidnih hibrida šećerne repe. *Selekcija i semenarstvo IV*: 111-117.
- StatSoft, Inc. (2012): STATISTICA (data analysis software system), version 11. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Stojaković, M., Čačić, N. i Dokić P. (1992): Varijabilnost težine korena i procenta suve materije kod šećerne repe. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, Novi Sad*, 83: 83-90.
- Sughroue, J.R. and Hallauer A.R. (1997): Analysis of the diallel mating design for maize inbred lines. *Crop Sci* 37: 400-405.
- Uphoff, H. and Wricke, G. (1995): A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers. *Plant Breed* 114: 355–357.
- Viard, F., Bernard, J. and Desplanque, B. (2002): Crop-weed interactions in the *Beta vulgaris* complex at a local scale: allelic diversity and gene flow within sugar beet fields. *Theor Appl Genet* 104: 688–697.

- Viard, F., Arnaud, J. F., Delescluse, M. and Cuguen, J. (2004): Tracing back seed and pollen flow within the crop-wild *Beta vulgaris* complex: genetic distinctiveness vs. hot spots of hybridization over a regional scale. Mol Ecol 13: 1357–1364.
- Veselinović, Z., Stančić, I., Petrović, S. i Živić, J. (1997): Unutarpopulaciona varijabilnost tetraploidnih monogermnih populacija šećerne repe. Selekcija i semenarstvo, IV, 1-2: 135-138.
- Walejko, R. N. and Russel, W. A. (1977): Evaluation of Recurrent Selection for Specific Combining Ability in Two Open-polinated Maize Cultivars. Crop Sci 17: 647-651.
- Wang, H-Z., Wu, Z-D., Wang, X-W. and Fang, Z-Y. (2008): Analysis of the genetic diversity in different types of sugar beets by SRAP and SSR Markers. Acta Agron Sin 34: 37–46.
- Wang M-Q., Wu Z-D. and Wang H-Z. (2011): Genetic Diversity of Major Sugar Beet Varieties from Three Regions of China with SRAP Markers. Acta Agron Sin 37: 811–819.
- Wang, X., Chiang, T., Roux, N., Hao, G. and Ge, X. (2007): Genetic diversity of wild banana (*Musa balbisiana* Colla) in China as revealed by AFLP markers. Genet Resour Crop Evol 54:1125–1132.
- Weber, J. L. (1990): Informativeness of human (dc - dA)n. (dG - dT)n polymorphisms. Genomics 7: 524-530.
- Westmann, A.L. and Kresovich S. (1997): Use of molecular marker techniques for description of plant genetic variation. In: Callow J.L., Ford-Lloyd, B.V. and Newbury, H.J.(eds), Biotechnology and Plant Genetic Resources. CAB International. 9-45.
- Wright, S. (1943): Isolation by distance. Genetics 28:114–138.
- Wright, S. (1951): The genetical structure of populations. Ann Eugen 15:323–354.
- Xu, S., Liu, J. and Liu, G. (2004): The use of SSRs for predicting the hybrid yield and yieldheterosis in 15 key inbred lines of Chinese maize. Hereditas 141: 207-215.
- Yeh, F.C., Yang, R. C. and Boyle, T. (1997): POPGENE The User Friendly Software for Population GeneticAnalysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta: Edmonton, Canada.

- Yu K., Park S. J., Poysa V. and Gepts P. (2000): Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Heredity* 91: 429-434.
- Zambezi, B. T., Horner, E. S. and Martin, F. G. (1986): Inbred lines as testers for general combining ability in maize. *Crop Sci* 26: 908-910.
- Zane, L., Bargelloni, L. and Patarnello, T. (2002): Strategies for microsatellite isolation: a review. *Mol Ecol* 11: 1–16.



## BIOGRAFIJA

Živko Ćurčić je rođen 25.12.1981. godine u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet u Novom Sadu, smer ratarstvo i povrtarstvoje upisao 2000. godine. Diplomirao je 2004. godine sa prosečnom ocenom 9,35, a diplomski rad iz oblasti genetike, pod naslovom „Genetska varijabilnost kvantitativnih svojstava suncokreta (*Helianthus annuus L.*)“ odbranio je sa ocenom deset. Godine 2004. upisao se na postdiplomske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu, smer genetika i oplemenjivanje biljaka. Položio je sve ispite sa prosečnom ocenom 9,29. Magistarski rad, iz oblasti genetike i oplemenjivanja biljaka, pod naslovom „Uticaj izvora otpornosti prema rizomaniji na kombinacione sposobnosti i kvantitativna svojstva šećerne repe“ odbranio je 07.04.2008. godine.

Dobitnik je nagrade Univerziteta u Novom Sadu za postignut uspeh u školskoj 2003/2004 godini.

Od 2005. godine, kao stipendista Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije, angažovan je na projektu „Oplemenjivanje i biotehnologija u funkciji povećanja genetskog potencijala šećerne repe“.

Februara 2007. godine zasniva radni odnos u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad na radnom mestu istraživač-pripravnik u Odeljenju za šećernu repu.

Na poziciji rukovodioca Odeljenja za šećernu repu u Institutu za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad se nalazi od aprila meseca 2013. godine.

Kao autor ili koautor učestvovao je u objavljinjanju preko 30 naučnih i stručnih radova, u naučnim i stručnim časopisim, kao i na skupovima u zemlji i inostranstvu, od tog broja, pet radova je objavljeno u međunarodnim časopisima.

Mr Živko Ćurčić je član Društva selekcionera i semenara Srbije i Društva genetičara Srbije.

Govori engleski jezik.

Oženjen je Natašom sa kojom ima dva sina Novaka i Nikolu.