

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Сања З. Микић

**Молекуларна и фенотипска карактеризација
НС инбред линија кукуруза**

докторска дисертација

Београд, 2014.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Sanja Z. Mikić

**Molecular and phenotypic characterisation of
NS maize inbred lines**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2014.

МЕНТОР:

др Гордана Шурлан Момировић, редовни професор,
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Славен Продановић, редовни професор,
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

др Анкица Кондић Шпика, виши научни сарадник,
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

др Томислав Живановић, редовни професор,
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

др Александра Настасић, виши научни сарадник,
Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад

Датум одбране:

Истраживања обухваћена овом докторском дисертацијом спроведена су у Институту за ратарство и повртарство у Новом Саду. Резултати ове докторске дисертације део су резултата националног пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (ТР-31073) и билатералног програма „Павле Савић“ између Србије и Француске (DIVERZEATY).

Од срца се захваљујем својој менторки из Института за ратарство и повртарство, др Анкици Кондић Шпики, на разумевању, подршци и корисним саветима у свим фазама израде докторске дисертације.

Искрено се захваљујем својој менторки са Пољопривредног факултета у Земуну, проф. др Гордани Шурлан Момировић, на великој помоћи и предусетљивости, не само приликом писања рада, већ и током читавих студија.

Велику захвалност желим да упутим проф. др Славену Продановићу, Пољопривредног факултета у Земуну, на стеченом знању и подршци током студија и израде дисертације.

Захвалност дугујем проф. др Милету Ивановићу, др Милицаву Стојаковићу, др Горану Бекавицу и др Ђорђу Јоцковићу на биљном материјалу и помоћи приликом извођења огледа.

Желим да се захвалим својим драгим колегама Биљани Брбаклић и Душану Станисављевићу на несебичној помоћи када је била најпотребнија.

Посебну захвалност дугујем свом супругу, родитељима и брату на подршци и љубави.

Молекуларна и фенотипска карактеризација НС инбред линија кукуруза

Резиме: Кукуруз је биљна врста која испољава велику фенотипску и генетичку варијабилност. У овом раду извршена је фенотипска и молекуларна карактеризација дивергентних инбред линија кукуруза које се користе у оплемењивачким програмима и које представљају могући извор алела са позитивним утицајем на агрономски важне особине. Такође, идентификовани су алели карактеристични за одређене хетеротичне групе и утврђене су потенцијално значајне везе између маркера и агрономски важних својстава применом асоцијативне анализе, са циљем даље примене у маркер асистираној селекцији. Анализирани материјал састојао се од 96 инбред линија из четири хетеротичне групе. Тридесет шест микросателитских маркера коришћено је за израчунавање параметара диверзитета генских локуса. Примењене су три кластер анализе на подацима добијеним молекуларном анализом. Пољски огледи су постављени у току две године, по потпуно случајном блок систему са три понављања. Дескриптивна статистика, анализа варијансе, линеарне корелације и анализа главних компоненти израчунате су за 13 особина. Везе између маркера и особина утврђене су применом општег и мешовитог линеарног модела. Просечан број алела износио је 8,3, просечна полиморфност појединачних локуса износила је 0,64, а проценат ретких алела 8,5% по локусу. Уочен је већи генетички диверзитет код *BSSS* него код *Lancaster* линија. Више од трећине алела било је карактеристично за само једну групу. Резултати кластер анализа су у великој мери били у међусобној сагласности. Анализа варијансе указала је на постојање статистички значајних разлика особина међу инбред линијама, годинама и локалитетима. Резултати кластер анализе фенотипских података били су у мањој мери сагласни са педигреима линија, него резултати анализе молекуларних података. Анализа главних компоненти издвојила је линије према хетеротичним групама и истакла њихове опште карактеристике. Велики број утврђених алела маркера са стабилним позитивним ефектима на принос указује на могући значај ових маркера у оплемењивању кукуруза.

Кључне речи: кукуруз, генетички диверзитет, микросателити, асоцијативна анализа

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биотехничке науке

УЖА НАУЧНА ОБЛАСТ: Генетика и оплемењивање

УДК број: 633.15:575.21(043.3)

Molecular and phenotypic characterisation of NS maize inbred lines

Summary: Maize has great phenotypic and genotypic variability. In this study a diverse set of maize inbred lines used in breeding programmes as a potential source of alleles with positive effects on important agronomic traits, was characterised at phenotypic and molecular level. Furthermore, alleles specific to heterotic groups were identified and potentially significant associations between markers and important agronomic traits which could be employed in marker assisted selection were determined. Ninety eight inbred lines from four heterotic groups were analysed. Thirty six microsatellite markers were used to obtain parameters for genetic diversity and three cluster analyses were employed based on molecular data. The field trials were set in randomised block design with three replications during two years to acquire phenotypic data. Descriptive statistics, analysis of variance, linear correlations and principal component analysis were performed for 13 traits. The associations between markers and traits were identified by the application of general and mixed linear model. The average number of alleles was 8,3, the average value of polymorphism information content was 0,64, whereas the percentage of rare alleles was 8,5%. Greater genetic diversity of BSSS inbred lines compared to the lines from Lancaster group were observed. More than one third of alleles were specific to only one of these two groups. The results of cluster analyses were to a large extent in agreement with each other. Analysis of variance indicated statistically significant differences in traits among inbred lines, years and locations. Cluster analysis based on phenotypic data was in less consistent with pedigrees of the inbred lines than the cluster analysis based on molecular data. Principal component analysis grouped inbreds into heterotic groups and indicated their general characteristics. A large number of identified marker alleles with stable positive effects on grain yield suggested the potential importance of these markers in maize breeding.

Key words: maize, genetic diversity, microsatellites, association analysis

SCIENTIFIC FIELD: Biotechnical Sciences

SPECIAL TOPIC: Genetics and Breeding

UDK number: 633.15:575.21(043.3)

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1 Значај кукуруза.....	1
1.2 Систематика кукуруза.....	1
1.3 Порекло и еволуција кукуруза.....	2
1.4 Ширење кукуруза из центра порекла у Европу и Балкан.....	3
1.5 Диверзитет кукуруза.....	3
2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА.....	4
3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	5
3.1 Значај и примена варијабилности кукуруза.....	5
3.2 Геном кукуруза.....	6
3.3 Доместикација и селекција кукуруза.....	8
3.4 Значај карактеризације гермплазме кукуруза	8
3.5 Фенотипска карактеризација кукуруза.....	10
3.6 Молекуларна карактеризација кукуруза.....	12
3.7 Селекција помоћу маркера.....	15
3.8 Мапирање.....	16
3.9 Гаметска неравнотежа (<i>Linkage disequilibrium</i>).....	18
3.10 Структура популације.....	19
3.11 Асоцијативна анализа.....	19
4. РАДНА ХИПОТЕЗА.....	22
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА.....	23
5.1 Биљни материјал.....	23
5.2 План огледа.....	25
5.3 Агроеколошки услови на испитиваним локалитетима.....	26
5.4 Фенотипска оцена инбред линија кукуруза.....	31
5.5 Молекуларна карактеризација инбред линија кукуруза.....	33
5.5.1 Екстракција и одређивање концентрације ДНК кукуруза.....	33
5.5.2 Микросателитски маркери кукуруза.....	34
5.5.3 Ланчана реакција полимеразе.....	36
5.5.4 Капиларна електрофореза	37
5.6 Статистичка обрада молекуларних података кукуруза.....	37

5.7 Статистичка обрада фенотипских података кукуруза.....	41
5.8 Асоцијативна анализа инбред линија кукуруза.....	43
6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	45
6.1 Генетичка варијабилност микросателитских маркера кукуруза.....	45
6.2 Анализа структуре популације кукуруза заснована на параметријском моделу...	50
6.3 Анализа структуре популације кукуруза заснована на генетичким растојањима.	60
6.4 Анализа структуре популације кукуруза заснована на анализи главних координата.....	65
6.5 Поређење фреквенција алела две групе инбред линија кукуруза.....	68
6.6 Гаметска неравнотежа између <i>SSR</i> маркера кукуруза.....	77
6.7 Дескриптивна статистика фенотипских података кукуруза.....	83
6.8 Кластер анализа фенотипских података кукуруза применом <i>UPGMA</i>	86
6.9 Анализа главних компоненти фенотипских података кукуруза.....	90
6.10 Анализа варијансе фенотипских података кукуруза.....	95
6.11 Корелације између мерених особина кукуруза.....	106
6.12 Асоцијативна анализа генотипова кукуруза.....	110
7. ЗАКЉУЧАК.....	128
8. ЛИТЕРАТУРА.....	130
9. ПРИЛОГ.....	154

1. УВОД

1.1 Значај кукуруза

Захваљујући својој веома широкој употреби у исхрани људи и домаћих животиња, кукуруз (*Zea mays* L.) је, поред пшенице (*Triticum aestivum* L.) и пиринча (*Oryza sativa* L.), најзначајнија и најзаступљенија житарица у свету. Кукуруз има велики значај и као сировина у прехранбеној, прерађивачкој, фармацеутској индустрији и за добијање великог броја производа попут: биоетанола, пластике, лепка, боја, адхезива, пестицида, експлозива, скроба, уља, алкохолних пића, заслађивача, текстилних влакана, сапуна и других. Додатна вредност ове биљне врсте огледа се и у благотворним здравственим својствима биоактивних једињења која се добијају из кукуруза.

Светска производња кукуруза износи око 1 милијарде тона зрна годишње и одвија се на око 184 милиона хектара, са просечним приносом од 5,5 t/ha. У Србији, кукуруз се гаји на око 1,19 милиона хектара, са просечним приносом од 4,9 t/ha и укупном производњом од преко 5,9 милиона тона меркантилног и око 36 хиљада тона семенског кукуруза (FAOSTAT 2013).

1.2 Систематика кукуруза

Кукуруз је једногодишња, странеоплодна и моноецијска биљка са раздвојеним мушким и женским цвастима на биљци. Национални центар за биотехнолошке информације (*National Center for Biotechnology Information, NCBI*) и Информациона мрежа генетичких ресурса (*Germplasm Resources Information Network, USDA, ARS, GRIN*) предлажу следећу класификацију кукуруза:

Надцарство: Eukaryota

Царство: Plantae - биљке

Подцарство: Tracheobionta - васкуларне биљке

Надраздео: Spermatophyta – семенице

Раздео: Magnoliophyta – цветнице

Класа: Liliopsida – монокотиле

Поткласа: Commelinidae

Ред: Poales/Супералес

Фамилија: Роасеае - траве

Потфамилија: Panicoideae

Племе: Andropogoneae

Род: *Zea*

Врста: *Zea mays* L. - кукуруз

Род *Zea* има пет врста: *Z. diploperennis* H. H. Iltis et al. (вишегодишња диплоидна теозинта), *Z. perennis* (Hitchc.) Reeves & Mangelsd. (вишегодишња тетраплоидна теозинта), *Z. nicaraguensis* H. H. Iltis & V. F. Benz (једногодишња теозинта), *Z. luxurians* (Durieu & Asch.) R. M. Bird (једногодишња теозинта) и *Z. mays* L. (једногодишња диплоидна врста која обухвата кукуруз и друге теозинте). У оквиру врсте *Z. mays* L., описане су четири подврсте: *Z. mays* L. subsp. *mays* (кукуруз), *Z. mays* L. subsp. *buehuetenangensis* (H. H. Iltis & Doebley) Doebley, *Z. mays* L. subsp. *mexicana* (Schrad.) H. H. Iltis и *Z. mays* L. subsp. *parviglumis* H. H. Iltis & Doebley.

Ранија подела кукуруза на велики број подврста указује на велику разноликост форми ове биљне врсте. Латински називи ових подврста описују боју, хемијски састав семена, облик зрна или присуство плевица: *Z. curagua* Molina, *Z. indentata* Sturtev., *Z. indurata* Sturtev., *Z. japonica* Van Houtte, *Z. mays* var. *alba* Alef., *Z. mays* var. *flavorubra* Körn., *Z. mays* var. *indentata* (Sturtev.) L. H. Bailey, *Z. mays* var. *indurata* (Sturtev.) L. H. Bailey, *Z. mays* var. *japonica* (Van Houtte) Alph. Wood, *Z. mays* var. *leucodon* Alef., *Z. mays* var. *saccharata* (Sturtev.) L. H. Bailey, *Z. mays* var. *tunicata* Larrañaga ex A. St.-Hil., *Z. mays* var. *vulgata* Körn. & H. Werner и *Z. saccharata* Sturtev. Данас се ови називи сматрају синонимима назива *Z. mays* subsp. *mays*.

1.3 Порекло и еволуција кукуруза

Сматра се да је кукуруз пореклом из Мексика и да је настао одомаћивањем једногодишње теозинте (*Z. mays* ssp. *parviglumis*) пре 7 до 10 хиљада година (van Heerwaarden et al. 2011). Пре 5-12 милиона година, дошло је до тетраплоидије, односно удвостручавања генома, и стварања два подгенома алотетраплоидијом. Даљом еволуцијом кукуруза дошло је до неједнаког губитка неких удвостручених гена (Schnable et al. 2009, 2011). На ову појаву указује присуство великог броја

удвостручених гена и генских сегмената са колинеарним редоследом у геному кукуруза (Wang et al. 1999, Matsuoka et al. 2002).

1.4 Ширење кукуруза из центра порекла у Европу и Балкан

Кукуруз има широк ареал гајења, од 58° северне географске ширине до 40° јужне географске ширине и до преко 4000 m надморске висине. У претколумбовском периоду, кукуруз се из центра порекла, Мексика, проширио на Северну и Јужну Америку. Убрзо након првог Колумбовог доласка на амерички континент, 1492. године, кукуруз је са Кариба пренет у Европу преко Шпаније и раширен у медитеранске земље. Након прве интродукције, уследило је друго преношење кукуруза тврдунца из умереног климата североисточне Америке у северну Европу почев од прве половине 16. и током 17. века (Rebourg et al. 2003). Кукуруз је на Балкан донет преко Турске, Грчке и Италије (Венеције) у 16. веку (Trifunović 1978). Ти први тврдунци карибског порекла су се на нашим просторима укрштали са касније интродукованим тврдунцима из Мексика и Анда, а затим и из Северне Америке, и били су прилагођени гајењу у брдским крајевима. Уношењем кукуруза зубана из тзв. кукурузног појаса САД, крајем 19. века, и укрштањем са постојећим тврдунцима створене су високопродуктивне сорте тзв. европског кукурузног појаса. Ове одомаћене сорте гајиле су се све док нису биле потиснуте из производње увођењем хибрида, шездесетих година 20. века (Радовић и Јеловац 1995).

1.5 Диверзитет кукуруза

Кукуруз, будући странооплодна биљна врста, испољава велику фенотипску и генетичку варијабилност. Велика разноликост услова гајења кукуруза допринела је стварању дивергентних популација прилагођених различитим земљишним, климатским и биолошким чиниоцима. Адаптације на специфичне локалне агроколошке услове гајења довеле су до стварања различитих форми кукуруза, које се разликују не само по морфолошким (боја, висина, облик и хабитус, развијеност кореновог система), већ и по физиолошким (раностасност, отпорност на болести и штеточине), биохемијским (садржај уља, аминокиселина, протеина, скроба), агрономским (продуктивност, садржај влаге, чврстина стабла) и генетичким одликама (разлике на нивоу ДНК).

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Основни циљеви истраживања су:

- фенотипска оцена агрономски значајних особина и појединих особина инбред линија кукуруза према *UPOV* дескриптору,
- молекуларна анализа инбред линија применом микросателитских маркера који су, према литературним подацима, повезани с приносом, компонентама приноса и другим важним агрономским особинама кукуруза,
- класификација генотипова кукуруза према резултатима фенотипске оцене и молекуларне анализе,
- процена генетичке сличности и односа инбред линија кукуруза на основу утврђене алелне дивергентности и идентификација алела карактеристичних за одређене генотипове или хетеротичне групе,
- процена и утврђивање сагласности генетичке структуре са подацима о педигреима линија кластер анализом и
- утврђивање потенцијално значајних веза између маркера и агрономски важних особина применом асоцијативне анализе, са циљем даље примене селекцији помоћу маркера.

3. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

3.1 Значај и примена варијабилности кукуруза

Кукуруз се одликује великим алелним диверзитетом и фенотипском варијабилношћу. Од његове доместикације, пре 10 хиљада година (van Heerwaarden et al. 2011), диверзитет гена и алела кукуруза се повећавао под утицајем великог броја чинилаца. Проток гена између теозинте и популација кукуруза, странооплодна природа кукуруза, природна и вештачка селекција, адаптација на нове гајења, рекомбинације гена, генетички дрифт (помак), мутације, транспозони и други чиниоци допринели су настанку све већег диверзитета постојеће гермплазме кукуруза (Walbot 2009).

У раним фазама гајења кукуруза, ова разноликост кукуруза првобитно је служила као извор варијабилности земљорадницима приликом одабира бољих биљака из локалних популација, а данас је од великог значаја за оплемењивање приликом стварања хибрида и генетику при анализи значајних особина.

Савремено оплемењивање кукуруза подразумева истовремену селекцију више особина, тестирања у различитим фазама развића биљака и циклуса селекције и евалуацију великог броја потомства из укрштања. Циљеви оплемењивања кукуруза су: висок и стабилан принос зрна, прилагодљивост на различите еколошке услове (различите дужине вегетације, тип земљишта, абиотички стрес), могућност механизоване бербе (чврсто стабло и корен, брзо отпуштање влаге), пожељан хемијски састав зрна или силаже и отпорност на преовлађујуће болести и штеточине.

Једна од савремених генетичких метода за утврђивање гена који одређују сложене и агрономски значајне особине је асоцијативна анализа (Yan et al. 2011). Предуслов за изналажење веза између генетичких чинилаца и фенотипске варијабилности асоцијативном анализом је стварање панела гермплазме који обухвата велики део укупне варијабилности испитиване особине, односно генотипове са многобројним комбинацијама алела већег броја локуса, познатих и као хаплотипови (Zhu et al. 2008).

3.2 Геном кукуруза

Кукуруз има $n=10$ хаплоидних хромозома, за разлику од већине припадника племена *Andropogoneae* код којих је основни број хромозома $n=5$, што указује на дупликацију генома и тетраплоидно порекло кукуруза. Око 72% генома кукуруза је удвостручено у два подгена. Међутим, због делимичне дупликације и значајних структурних промена у току еволуције генома, кукуруз нема хомеологне хромозоме (Schnable et al. 2009, 2011). Услед бројних транслокација, инсерција, делеција, инверзија и дупликација, дошло је до нарушавања микроколинеарности, односно редоследа удвостручених гена кукуруза (Fu and Dooner 2002, Song and Messing 2003). Дуплирани гени, паралози, који се међусобно могу знатно разликовати или бити скоро идентични, омогућују експресију више од два алела једног гена. Ова појава доприноси већој стабилности генотипа у различитим условима средине, већој фенотипској варијабилности и могућности позитивне селекције и преношење на потомство неког ретког алела са позитивним ефектом на пожељну особину (Emrich et al. 2007).

Процењује се да се укупан број функционалних кодирајућих гена кукуруза креће од 32000 (Schnable et al. 2009) до 59000 (Messing et al. 2004). Смештени у збијене генске кластере, развојени дугим интергенским регионима, гени кукуруза чине само око 5%-7,5% генома кукуруза (Meyers et al. 2001, Messing et al. 2004), док већину генома чине понављајуће секвенце. Haberer et al. (2005) су израчунали да је просечан ген кукуруза величине 4 kb и да се састоји од пет егзона, док најдужи утврђени ген има 59 kb и 31 егзон. У истом истраживању израчуната је и учесталост појаве гена од 0,5 до 10,7 гена на сваких 100 kb и величина генома кукуруза од 2,4 Gb са 66% понављајућих елемената. Каснија истраживања утврдила су нешто већи садржај понављајуће секвенце у геному кукуруза, од 85% (Zhou et al. 2009). Проточном цитометријом утврђено је варирање величине генома различитих линија кукуруза од 2,3 Gb до 2,5 Gb (Bennetzen et al. 2005). Када би дошло до експресије свих гена који чине хаплоидни геном кукуруза, величина укупног транскрипта, односно ефективна величина генома, износила би 97 Mb (Hansey et al. 2012). Садржај GC база износи око 50% (Hake and Walbot 1980) и присутнији је у егзонима него у интронима (Haberer et al. 2005).

Највећи део генома кукуруза чине ретроелементи или транспозони. То су фрагменти ДНК који имају способност кретања по геному посредством РНК уз помоћ реверзне транскриптазе. Покретни елементи имају значајну улогу у стварању алелног диверзитета, тако што исецају део ДНК, који може обухватити цео ген или његов фрагмент и уграђују га у други део генома, често у други ген (Brunner et al. 2005). Понекад се може десити транскрипција делова премештених гена преко хелитрона, врсте покретних елемената, при чему се ствара химерни транскрипт од дела премештеног гена и гена у који се други део гена уградио (Barbaglia et al. 2012). Процењено је да су од укупног броја транскрипта у геному кукуруза, чак 25% нови и настали активношћу хелитрона, који сами чине 2% генома кукуруза (Du et al. 2009, Yang and Bennetzen 2009).

Висок степен варијабилности алела кукуруза утврђен је поређењем секвенци у оквиру врсте. Процењује се да на сваких 100 базних парова постоји један полиморфизам између две насумично изабране инбред линије (Tenailon et al. 2001, Ching et al. 2002). Тако се, на пример, индел (ИНсерције - ДЕЛеције) полиморфизми између линија *B73* и *Mo17* појављују на сваких 309 bp, док су једнонуклеотидни полиморфизми (*Single Nucleotide Polymorphism; SNP*) уочени на сваких 79 bp (Vroh Bi et al. 2005).

Утврђено је да разлике у садржају производа транскрипције између линија *B73* и *Mo17* не морају бити последица само разлика у генима између ове две линије, већ и експресије гена, која настаје услед *cis* или *trans* делујућих варијабилности у регулаторним секвенцама или транскрипционим факторима. Извори диверзитета могу бити и варијабилност у *sense-antisense* транскрипцији, алелна варијабилност код различитих образаца ДНК метилација и алелна варијабилност хроматина (Springer and Stupar 2007).

Сматра се да мање проучене епигенетичке појаве који мењају експресију гена без промена ДНК секвенци, попут генетичког импринтинга, парамутација, утишавање гена (енгл. *gene-silencing*), могу имати важну улогу у еволуцији, развојним фазама и фенотипској варијабилности кукуруза (Li et al. 2010a, Eichten et al. 2013, Lauria et al. 2014).

3.3 Доместикација и селекција кукуруза

Доместикација кукуруза из теозинте настала је вештачком селекцијом и фиксирањем алела оних гена који су омогућили гајење кукуруза, појаву клипа и голог семена без плева (Dorweiler et al. 1993, Gallavotti et al. 2004, Wang et al. 2005) и утицале на побољшање агрономских особина усева. Последица доместикације била је појава тзв. уског грла, односно, смањеног диверзитета око 1200 гена који су били под непосредним селекционим притиском (Tenailon et al. 2004, Wright et al. 2005). Даљом селекцијом тзв. пожељни алели који контролишу морфолошке особине и квалитет зрна су се најраније фиксирани у популацији (Jaenicke-Despres et al. 2003). Нешто касније, вештачком селекцијом створане су инбред линије погодне за производњу високоприносних и квалитетних хибрида у датим условима средине. У току селекције, долазило је до губитака једних и фиксирања других алела који су омогућили бољу адаптацију на дате еколошке услове. Генотипови у мањој мери прилагођени одређеним агроколошким условима у односу на локалне популације сматрају се егзотичном гермплазмом у смислу њихове генетичке конституције и интеракције генотипа и спољашње средине (Živanović et al. 2007).

Прелазак са гајења популација на гајење хибрида кукуруза одредило је откриће хетерозиса почетком 20. века (Shull 1908, East 1908). Инбред линије се на основу комбинационих способности сврставају у хетеротичне групе, а при укрштању линија из различитих хетеротичних група тежи се постизању хибридног вигора или хетерозиса. Хетеротични шаблони представљају комбинације укрштања хетеротичних група за које се предвиђа постизање високог нивоа хетерозиса. Три најзначајније хетеротичне групе чине *Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)*, *Lancaster* и *Iodent*. Сви комерцијални хибриди крајем осамдесетих година прошлог века потицали су од само шест инбред линија, од чега три *Lancaster* типа, *C103*, *Mo17* и *Ob43*, и три *BSSS* линије, *B37*, *B73* и *A632* (Goodman 1990). Комбинација алелних варијабилности и интеракције које стварају хибридни фенотип и даље су непознаница.

3.4 Значај карактеризације гермплазме кукуруза

Карактеризација инбред линија кукуруза које се користе у оплемењивачким програмима као могући извор алела са позитивним утицајем на агрономски важне

особине, од великог је значаја. Идентификација нових или ретких алела са позитивним ефектом на експресију одређене особине, уношење таквих алела прво у инбрид линије, а затим у хибриде, захтева претходни опис, карактеризацију и класификацију генетичког материјала и утврђивање генетичких односа између инбрид линија неког оплемењивачког програма (Liu et al. 2003). За такву евалуацију генотипова могу се користити морфолошки, биохемијски и молекуларни маркери.

Морфолошки маркери се утврђују визуелно, без примене молекуларних или биохемијских техника. Најчешћи морфолошки маркери су боја или облик неког дела биљке. Биохемијски маркери се утврђују анализом биохемијских производа одређеног генског локуса, као што су изозими, алозими, терпени или полифеноли. Молекуларни маркери су секвенце ДНК унутар гена или у његовој близини које указују на алелни облик гена који контролише експресију неке особине. Они су веома полиморфни, једноставни за примену и независни од чинилаца спољашње средине и фазе раста и развића биљака.

За карактеризацију инбрид линија кукуруза користе се дескриптори Међународне уније за заштиту нових биљних сорти (*The International Union for the Protection of New Varieties of Plants, UPOV*), Међународног центра за унапређење пшенице и кукуруза (*International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT*) и института *Bioversity International*, под покровитељством Организације за храну и пољопривреду (*Food and Agriculture Organization, FAO*) Уједињених Нација, Информационе мреже генетичких ресурса Министарства пољопривреде САД (*USDA, ARS-GRIN*) и Базе података Европске Уније о популацијама кукуруза (*The European Union Maize Landrace Database, EUMLDB*) који обухватају морфолошке (квалитативне и квантитативне особине) и биохемијске маркере.

Карактеризација инбрид линија може се извршити класификацијом у хетеротичне групе на основу њихових комбинационих способности. При укрштању инбрид линија из различитих хетеротичних група долази до појаве хетерозиса приноса. Да би се утврдило којој хетеротичној групи нека линија припада, спроводе се укрштања те линије са линијама познатих хетеротичних група, анализира се њен педигре или се користе резултати молекуларне анализе.

Опис и карактеризација инбрид линија предуслов је за планирање укрштања, придруживање инбрид линија хетеротичним групама, идентификацију генетичког материјала, избор тестера којим ће се испитати комбинационе способности инбрид

линије непознатог порекла или добијене из више линија различитих хетеротичних група, заштиту оплемењивачких права и селекцију помоћу маркера (Reif et al. 2003a, Reif et al. 2003b). С обзиром на то да је генетички диверзитет елитних инбред линија мањи у поређењу са диверзитетом кукуруза као врсте, Tarter (2004) истиче важност егзотичне гермплазме као носиоца алела одсутних у елитном материјалу и, нарочито, као извор отпорности на биотички и абиотички стрес.

3.5 Фенотипска карактеризација кукуруза

Међународна унија за заштиту нових биљних сорти утврдила је критеријуме за спровођење теста за различитост, униформност и стабилност (*Distinctness, Uniformity and Stability, DUS*) и дефинисала фенотипске дескрипторе, односно, морфолошке особине, који се користе за опис и карактеризацију линија, хибрида и популација кукуруза (UPOV 2009).

Приручници за карактеризацију кукуруза *UPOV*, *CIMMYT*, *Bioversity International*, *ARS-GRIN* и *EUMLDB* дају опис битних карактеристика које се оцењују, са препорученим процедурама за постављање огледа и статистичку анализу. У њима је, такође, одређено које особине се оцењују визуелно, а које мере, у зависности од тога да ли су квалитативне или квантитативне природе. Иако се истиче да је предност фенотипских маркера њихова једноставност за оцену и економичност, често је број ових маркера недовољно велики за карактеризацију свих генотипова. Међу другим недостацима, истиче се непоузданост података због утицаја фактора спољашње средине на њихову експресију, субјективност визуелне оцене и непогодност дисконтинуираних података за статистичку анализу. Моћ дискриминације генотипова варира у зависности од карактеристика које се користе као дескриптори. Висина биљке, дужина корена, интензитет зелене боје листова, положај листова на биљци су особине које имају малу моћ дискриминације (Lootens et al. 2013).

Без обзира на ове недостатке, морфолошке особине се у великој мери користе као конвенционални дескриптори и имају велики значај у пољопривредним истраживањима (Babić et al. 2011). Babić et al. (2011) су визуелном оценом фенотипских особина сврстали инбред линије у групе хомогене по сродности, утврдивши сагласност класификација према фенотипским особинама са подацима о

пореклу инбред линија. Резултати њиховог истраживања упућују на могућност одабира добрих тестера на основу просечне морфолошке удаљености инбред линија. Ortiz et al. (2008) су груписали осам перуанских популација кукуруза примењивајући класификациони метод *Ward-Modified Location* и користећи шест морфолошких особина: висину биљке, висину биљке до примарног клипа, број листова, број листова изнад примарног клипа, дужину и ширину листа. Ови аутори сматрају да је употреба вегетативних особина за класификацију гермиплазме кукуруза могућа уколико се примене одговарајући статистички методи и уколико особине имају довољно велику генетичку варијабилност и херитабилност.

Као резултат интензивних молекуларних истраживања генома кукуруза, развоја нових метода и програма за анализу добијених података, настала је несразмера између огромне количине генотипских података добијених применом молекуларних маркера и анализа ДНК секвенци, с једне, и количине и квалитета података добијених класичном морфолошком карактеризацијом, фенотипском оценом и мерењем квалитативних и квантитативних особина, с друге стране. Потреба за прецизним фенотипским подацима великог броја биљака који би допринели бољем разумевању односа између фенотипа и генотипа, довела је до нових технолошких решења и развоја нове биолошке области која се односи на мерење морфолошких и биохемијских особина, феномике. Створене платформе за фенотипизацију, роботизовани и аутоматизовани системи користе се за фотографисање, мерење и анализу великог броја морфолошких, биохемијских и физиолошких особина биљака недеструктивним методама, као што су фотосинтетички процеси (Chaerle et al. 2007), пораст и фенолошке фазе (Sozzani et al. 2014), особине корена (Grift et al. 2011, Clark et al. 2013), отпорност на сушу (Berger et al. 2010), архитектура биљке (Winterhalter et al. 2013), температурни стрес (Araus and Cairns 2014) и режим усвајања хранљивих елемената (Simons et al. 2014).

Велика варијабилност и комплексна генетичка основа приноса и других квантитативних особина отежава разумевање специфичних метаболичких путева, који леже у основи експресије ових својстава, а тиме и селекцију помоћу маркера (Collins et al. 2008). Процена генотипских корелација линија *per se* и потомства укрштања је од великог значаја за предвиђање учинка хибрида на основу претходно утврђених вредности родитељских инбред линија. Код особина велике херитабилности и са малим хетерозисом, попут дужине клипа, време цветања, висине

биљке или садржаја влаге зрна, корелације линија *per se* и хибрида су средње или велике, док су код особина мале херитабилности и већим хетеротичним ефектом, као што је принос, ове корелације мале (Smith 1986, Hallauer and Miranda 1988, Austin et al. 2000, Bekavac et al. 2008). Сматра се да је разлог томе маскирајући ефекат пожељних доминантних алела тестера над алелима линија које се тестирају (Smith 1986), епистаза и негативни ефекти рецесивних гена у хомозиготним линијама (Mihaljevic 2005). Стога је селекција заснована на вредностима линија *per se* могућа само код особина са великом херитабилношћу, док се селекција линија које ће дати приносне хибриде заснива на њиховим општим и комбинационим способностима утврђеним у огледима након укрштања са одговарајућим тестерима. Међутим, иако је принос инбред линија *per se* у малој корелацији са приносом потомстава у укрштањима и не може се користити за поуздано предвиђање приноса хибрида, вредност приноса инбред линија *per se* има велики значај у семенарству кукуруза. Мали принос инбред линија које служе као родитељске компоненте може бити узрок мале продуктивности и неисплативости семенске производње. Хибриди који су скупи за производњу имају ограничени комерцијални потенцијал без обзира на њихову родност. С тога је оцена приноса и компоненти приноса инбред линија *per se* начин процене исплативости семенске производње хибридног кукуруза (Pinnisch et al. 2012).

3.6 Молекуларна карактеризација кукуруза

Молекуларни маркери

Молекуларни маркери омогућују идентификацију локуса који утичу на генетичку варијабилност квалитативних и квантитативних особина и селекцију супериорних генотипове за дате локусе. У односу на фенотипске маркере, молекуларни маркери се могу детектовати у свим биљним ткивима независно од фазе раста и развоја, утицаја фактора спољашње средине, плејотропних и епистатичких ефеката. За анализу биљног генома развијен је и примењује се велики број различитих типова молекуларних маркера. Молекуларни маркери се могу класификовати према: методу који се користи за утврђивање ДНК полиморфизма (хибридизација, ланчана реакција полимеразе), врсти полиморфизма који детектују (тачкасте мутације, инсерције, делеције, инверзије, дупликације), типу наслеђивања

(доминантно, кодоминантно) и ћелијској органели у којој се налазе (нуклеарни, митохондријални, хлороплазматични). Врсте маркера, њихове особености и разлике детаљније су описане у више прегледних радова (Gupta and Rustgi 2004, Schulman 2007, Agarwal et al. 2008, Poczai et al. 2013, Khan et al. 2014).

Микросателити

Микросателити или *SSR (Simple Sequence Repeats)* су кратке нуклеотидне секвенце које се састоје од 1 до 6 нуклеотидних базних парова који се у тандему понављају у датој секвенци. Полиморфизам амплификованих геномских секвенци настаје услед разлика у броју тандемских поновака који се налазе између прајмера. Велики број алела, односно разлика у броју поновака, којима се одликују ови маркери сматрају се последицом неједнаког кросинговера у процесу мејозе, активности ретротранспозона или грешака у току репликације ДНК која садржи понављајуће елементе при чему полимеразе прескочи или умножи већи број тандемских поновака од броја на изворној ДНК матрици (Kalia et al. 2011).

Микросателити су присутни у једарној, митохондријалној и хлоропластној ДНК, као и изван и унутар гена: у интронима, егзонима и нетранслаторним завршним секвенцама (*5' и 3' UTR, untranslated regions*). Микросателити унутар гена су мање полиморфни у односу на микросателите изван гена, јер су кодирајући ДНК региони много конзервативнији и мање подложни мутацијама. Ипак, с обзиром на то да се налазе унутар самог гена, ови микросателити имају већи значај у истраживањима функција гена и утврђивању везе између маркера и анализиране особине (мапирању), као и у упоредним, компаративним истраживањима сродних врста (Guichoux et al. 2011). База генетичких и геномичких података о кукурузу, *Maize Genetics and Genomics Database (http://www.maizegdb.org/)*, садржи 2584 мапираних *SSR* од којих су 184 унутар гена.

Иако улога *SSR* у геному биљних врста није потпуно разјашњена, утврђено је да тандемски поновци имају улогу у стварању фенотипског диверзитета врсте и утицај на транскрипцију, транслацију и експресију гена (инактивацију и утишавање гена) (Li et al. 2004a). Dresselhaus et al. (1999) су открили да је микросателитски поновак *CCG* у 5' нетранслаторној завршној секвенци рибозомалног гена укључен у процесе оплодње кукуруза. Веза између великог броја тринуклеотидних поновака у егзонима гена и неколико дегенеративних неуролошких болести добро је проучена

код људи, али до сада није утврђена у биљном свету. Varshney et al. (2005) сматрају да штетан утицај варирања броја поновака код гајених биљака није примећен због одбацивања јединки са непожељним мутацијама у процесу селекције, док се штетне мутације у људској популацији дуже одржавају и теже искорењују. У кодирајућим деловима генома главних гајених врста, најзаступљенији су тринуклеотидни поновци, а затим ди- и тетрануклеотидни поновци (Morgante et al. 2002, Gao et al. 2003). Ово је резултат одбрамбеног механизма - негативне селекције према мутацијама које могу да промене редослед нуклеотида у кодирајућој секвенци, што може довести до промена у транслацији и стварања дегенеративног протеина или изостанак његовог стварања (Metzgar et al. 2000). Фреквенција мутације микросателита код кукуруза износи 10^{-4} - 10^{-5} и зависи од просечне дужине алела, дужине поновка и нуклеотида који чине поновак. Алели са великим бројем поновака и динуклеотидни поновци имају већу стопу мутације (Vigouroux et al. 2002).

Предност SSR маркера у односу на друге молекуларне маркере је у њиховој значајној заступљености у геному, великом алелном диверзитету, кодоминантном наслеђивању, великој информативности, поновљивости добијених резултата, приступачној цени, једноставности за рад (Agarwal et al. 2008). Усавршавањем метода истовременог умножавања различитих ДНК сегмената са више прајмера у једној PCR реакцији (вишеструка, мултиплекс PCR) и обележавање алела чије се величине не поклапају са истим флуоресцентним бојама, а алела са сличним или истим величинама са различитим бојама приликом анализе умножених продуката капиларном електрофорезом омогућена је обрада великог броја узорака и повећан потенцијал микросателита (Guichoux et al. 2011).

Микросателити имају широку примену у интер и интраспециес анализи диверзитета, карактеризацији колекција гермплазме, утврђивању генетичких дистанци између различитих генотипова, анализи педигреа, мапирању гена и локуса за квантитативне особине (*Quantitative Trait Loci, QTL*), селекцији помоћу маркера, таксонимији, компаративној генетици, студијама еволутивних процеса, функционалној геномици, популационој генетици, идентификацији сорти (фингерпринтинг), заштити оплемењивачких права и анализи чистоће семенског материјала (Warburton and Hoisington 2001).

3.7 Селекција помоћу маркера

Селекција помоћу маркера или маркер асистирана селекција (МАС) подразумева примену молекуларних маркера у оплемењивању биљака у циљу повећања ефикасности селекције на својства од агрономског и економског интереса, нарочито квантитативних особина које су под утицајем већег броја гена и чинилаца спољашње средине. Користи се приликом преношења гена из једног или више генотипова у други, избора родитеља за хибридне комбинације у раним фазама селекције, утврђивања корелације између својства и маркера и проналажења гена који контролишу неку агрономску особину.

Селекција помоћу маркера је комплементарна класичној, фенотипској селекцији и од великог је значаја код анализе оних агрономских особина чија су мерења и оцене компликоване (нпр. квалитет, биохемијске карактеристике) или скупе (нпр. мултилокацијски огледи за оцену приноса). Применом МАС може се скратити циклус селекције код оних особина које захтевају фенотипску оцену у физиолошкој зрелости усева (нпр. отпорност на сушу, квалитет, принос), јер је омогућен ранији одабир биљака већ у фази клијанаца на основу резултата ДНК анализе (Bouchez et al. 2002). Употребом маркера, олакшано је и убрзано преношење алела из генома донора у рекурентни генотип повратним укрштањима и смањена или уклоњена појава сегмената генома донора који носе непожељне алеле, а налазе се у близини гена који се преноси (енгл. *linkage drag*). Ефикасност МАС зависи од херитабилности својства, величине мапирајуће популације, генетске основе својства, релативних трошкова МАС у односу на фенотипску селекцију.

Dekkers and Hospital (2002) наводе два приступа приликом примене селекције помоћу маркера у процесу оплемењивања. Први подразумева коришћење маркера за стварање тзв. идеалног генотипа на тај начин што се већи број пожељних гена оба родитеља користе за конструкцију новог генотипа. Овај приступ карактеристичан је за уношење једног или више гена повратним укрштањима. После четири генерације повратног укрштања уз помоћ маркера, Ribaut and Ragot (2007) су пренели пет хромозомских сегмената из линије отпорне на сушу у осетљиву елитну линију, задржавши 86% генома рекурентног родитеља. Примери успешне селекције применом маркера представљени су у истраживањима: на отпорност према инсектима (Willcox et al. 2002), болестима (Abalo et al. 2009, Asea et al. 2012), суши

(Tuberosa and Salvi 2006) на раностасност (Bouchez et al. 2002) и квалитет (Yang et al. 2013, Sureshkumar et al. 2014). Други приступ посматра маркере као секундарне особине на које се примењује селекција, при чему се за сваки маркер израчунавају селекциони индекси, пондери који се користе у рекурентној селекцији и за стварање инбрид линија. Eathington et al. (2007) су користећи селекционе индексе маркера за више особина утврдили двоструку већу ефикасност селекције применом маркера у односу на фенотипску селекцију.

Да би примена селекције помоћи маркера била ефикасна и економски оправдана потребно је утврдити постојање генетичке везе између молекуларних маркера и гена или *QTL* под чијом је контролом особина од интереса и обезбедити рутинску аутоматизовану анализу великог броја узорака (Collard et al. 2005). Маркер асиситирана селекција је заправо последњи корак у процесу оплемењивања који обухвата неколико фаза: фенотипску и молекуларну карактеризацију оплемењивачког материјала и других генетичких ресурса у циљу проналажења пожељних алела (предоплемењивање), одабир полиморфних маркера, утврђивање корелација између варијабилности алела маркера и жељене особине, идентификацију и одређивања ефеката *QTL* (мапирање), проверу стабилности *QTL* у више агроеколошких средина и на различитом генетичком материјалу (валидација или потврда) и примену маркера везаних за *QTL* у оплемењивању.

3.8 Мапирање

Мапирање је поступак којим се одређује корелација између фенотипских варијабилности неке особине и генотипских варијабилности, алела, који контролишу ту особину у некој експерименталној популацији. Фенотипске варијабилности анализирани особине се одређују директно, визуелном оценом или мерењем, док се облик алела гена или *QTL* одређује посредно, помоћу молекуларних маркера. Ако су алели маркера који се налазе у јединкама експерименталне популације одређеног фенотипа (нпр. више биљке) чешћи него у јединкама са супротним фенотипом (нпр. ниже биљке) и ако се ова корелација статистички потврди, онда је ген или *QTL*, којег маркер представља, генетички чинилац који контролише варирање дате особине (висине биљке). Да би алели маркера били поуздани показатељи алела гена или *QTL*, потребно је да се маркер и ген налазе

блнзу једно другог или да маркер буде унутар гена. Маркер и ген који су блнзу једно другог (<1сМ) се заједно наслеђују и сматрају се генетички везаним. Што су маркер и ген удаљенији, већа је вероватноћа рекомбинације између њих у мејози и губитка везе, чинећи мапирање непрецизним и непоузданим. Циљ мапирања је проналажење маркера који су генетички везани са геном или *QTL* који контролише неку особину.

Мапирање обухвата неколико корака: стварање, фенотипску оцену и генетичку анализу експерименталне популације, груписање генотипова са истим алелима, тестирање значајности разлика фенотипских средина за дату особину између група генотипова и утврђивање веза између *QTL* и особине.

У последње две деценије објављен је велики број радова о *QTL* мапирању различитих особина кукуруза добијених анализом молекуларним маркерима. Међутим, постоји значајна несразмера у броју радова о откривеним *QTL* за агрономски важне особине и радова о њиховој практичној примени у оплемењивању. Разлог тога је што су мапирани *QTL* често непостојани, односно не могу се идентификовати, или имају различите ефекте у различитим срединама и експерименталним популацијама (Almeida et al. 2013). Локуси за квантитативна својства који су стабилни у више мапирајућих популација, на различитим локалитетима и годинама огледа, могу имати велики практични значај, након провере веза маркер-особина на оплемењивачком материјалу. Преглед микросателитских маркера коришћених за мапирање *QTL* за принос, компоненте приноса, садржај влаге, висину биљке, време цветања, квалитет и друге особине и који су идентификовани и постојани у већем броју истраживања, на различитом генетичком материјалу и срединама дат је у прилогу 10 (таб. 50).

У зависности од тога да ли се експериментална популација која се користи за мапирање састоји од сродних или несродних јединки, мапирање се дели на *QTL* мапирање (класично мапирање, анализа везе, енгл. *linkage mapping*) и асоцијативну анализу (асоцијативно мапирање, мапирање гаметске неравнотеже, енгл. *linkage disequilibrium mapping*). *QTL* мапирање користи популације настале укрштањем два фенотипски различита родитеља (нпр. F_2 популације, популације створене повратним укрштањима, дихаплоидне популације, рекомбинантне инбред линије), док асоцијативно мапирање користи популације које се састоје од великог броја дивергентних генотипова (нпр. инбред линија) различите генетичке основе. За успех асоцијативне анализе и правилну интерпретацију резултата од великог значаја су

подаци о гаметској неравнотежи између локуса генома и структури популације која се анализира.

3.9 Гаметска неравнотежа (*Linkage disequilibrium*)

Гаметска неравнотежа је појава везаности алела неколико генских локуса услед смањене рекомбинације при чему се алели локуса у гаметској неравнотежи чешће наслеђују заједно. Резултат тога је чешћа појава неких алелних комбинација у популацији од очекиване на основу фреквенција алела (Jannink and Walsh 2002).

На гаметску неравнотежу утиче степен рекомбинације и удаљеност између два локуса. Гаметска неравнотежа опада брже код странооплодних биљака у односу на самооплодне и код популација шире генетичке основе у односу на популације уже генетичке основе због смањења рекомбинације са повећањем хомозиготности. Из тог разлога, гаметска неравнотежа код популација кукуруза опада већ у оквиру 1 kb (Remington et al. 2001, Tenaillon et al. 2001, Gore et al. 2009), 2 kb код разноврсних инбрид линија (Yan et al. 2009), док код комерцијалних елитних инбрид линија гаметска неравнотежа може захватити и 500 kb (Rafalski 2002, Jung 2004). Она, такође, зависи и од гена и генских региона, који испољавају различити степен смањења гаметске неравнотеже током генерација рекомбинације услед различитог селекционог притиска (Yu and Buckler 2006). Величина ДНК сегмента у којем постоји гаметска неравнотежа одређује број маркера који је потребан за асоцијативну анализу и резолуцију откривених веза маркер-својство. Уколико гаметска неравнотежа опада брзо са порастом физичког растојања дуж генома, потребан је већи број маркера за асоцијативну анализу (Thornsberry et al. 2001). Велики распон гаметске неравнотеже утиче на мању резолуцију, односно статистички значајна веза маркер-својство може се утврдити и када је маркер знатно удаљен од генског локуса који контролише својство. Такви маркери имају мали оплемењивачки значај, јер не могу да послуже за утврђивање веза са испитиваним особинама на другом генетичком материјалу где гаметска неравнотежа није постојана.

Утицај селекције на стварање гаметске неравнотеже у току оплемењивања огледа се у повећању фреквенција пожељних алела и стварању коваријансе између алела различитих локуса, што отежава оцену фенотипског ефекта појединачног локуса (Myles et al. 2009). Епистаза, такође, може довести до повећања гаметске

неравнотеже уколико одређене комбинације алела имају већи фитнес и селекција фаворизује такве комбинације, а инверзије и транслокације унутар којих је смањена фреквенција рекомбинације одржавају те комбинације (Gupta et al. 2005).

3.10 Структура популације

Дуг период гајења, различити путеви ширења, адаптација на различите агроеколошке услове и интензивни процеси селекције у току оплемењивања кукуруза утицали су на стварање дивергентних популација са неједнаком расподелом и особеним комбинацијама алела и ограниченим протоком гена, односно ограничене могућности међусобног укрштања (Camus-Kulandaivelu et al. 2006). Створена стратификација популација кукуруза, тзв. структура популације, може утицати на откривање лажно позитивних веза између маркера и особина приликом асоцијативног мапирања. Лажно позитивне везе настају због гаметске неравнотеже између маркера и локуса који контролише фенотипску варијабилност, те се они заједно наслеђују иако нису физички везани, нпр. налазе се на различитим хромозомима (Pritchard and Rosenberg 1999, Andersen et al. 2005). Утврђено је да се чак 33 до 35% фенотипске варијабилности времена цветања може објаснити постојањем структуре популације у дивергентној популацији генотипова кукуруза (Flint-Garcia et al. 2005).

Pritchard et al. (2000) су развили метод којим се процењује структура популације и сродности између индивидуа и уградили га у статистичке тестове софтверског пакета *STRUCTURE* смањујући појаву лажно позитивних веза до 80%. Информације о припадности генотипова потпопулацијама и сродности добија се молекуларном анализом.

3.11 Асоцијативна анализа

Асоцијативна анализа утврђује корелацију између фенотипских и генотипских података већег броја дивергентних несродних индивидуа, на основу гаметске неравнотеже. Она користи велики број генерација рекомбинација које су се одвиле у току дугог периода еволуције, доместикације и селекције гајене врсте. Рекомбинације током већег броја генерација утичу на губитак везе између гена и

маркера који нису у физичкој близини (лажне везе) и омогућавају откривања асоцијација само оних гена и маркера који су међусобно веома близу, чиме се повећава резолуција мапирања. Само маркери који су тесно везани за испитивани локус и/или који се налазе унутар гаметске неравнотеже показују значајне везе (Zondervan and Cardon 2004).

Предност асоцијативне анализе огледа се у могућности анализе више особина одједном и откривању великог броја алела у мапирајућој популацији, за разлику од *QTL* мапирања код којег је могуће утврдити заступљеност само два алела и анализирати једну особину. Такође, за асоцијативну анализу није потребно стварање експерименталне популације које изискује доста времена и значајне трошкове, већ се може применити непосредно на оплемењивачком материјалу, што је од великог практичног значаја. Док је део фенотипске варијабилности објашњен молекуларним маркерима далеко већи него код *QTL* мапирања, статистичка моћ откривања ретких алела у асоцијативној анализи је мала, чак и код оних алела са великим ефектом (Visscher 2008).

Један од првих метода откривања пожељних алела под чијом су контролом сложене, квалитативне особине је асоцијативно мапирања кандидат гена. Оно обухвата анализу само сегмента ДНК мањим бројем маркера везаних за ген или секвенцирање гена за који се претпоставља да је одговоран за фенотипску варијабилност испитиване особине на основу резултата ранијих истраживања. Прва асоцијативна анализа кандидат гена потврдила је везу између времена цветања кукуруза и *dwarf8* гена, указала на утицај селекције овог локуса на стварање раностаснијих генотипова и проценила ефекат делеција две аминокиселине на раније цветање (Thornsberry et al. 2001). Занимљиво је истаћи да аутори нису пронашли везу између времена цветања кукуруза и *teosinte branched 1* гена, који је удаљен само 1 cM од *dwarf8* указујућу на брзо опадање гаметске неравнотеже дуж генома кукуруза. Асоцијативном анализом кандидат гена, такође је одређена улога *sugary1 (su1)* гена у стварању сахарозе кукуруза и откривена мутација једног нуклеотида *su1* гена одговорна за фенотипску варијабилности (Whitt et al. 2002).

Последње деценије, технолошки развој омогућио је испитивање читавог генома са огромним бројем маркера на ДНК микрочипу без претходног знања о положају претпостављеног гена на мапи или његовој вези са фенотипском варијабилношћу (Ziegler et al. 2008). Асоцијативном анализом читавог генома могу се

проценити ефекти великог броја маркера у циљу предвиђања и селекције индивидуа са највећом оплемењивачком вредношћу (Meuwissen 2001).

Новији приступ асоцијативном мапирању кукуруза, тзв угњездено асоцијативно мапирање (енгл. *Nested Association Mapping*), обједињује асоцијативну анализу и мапирање засновано на познатим педигреима у циљу повећања статистичке моћи и резолуције мапирања веза између маркера и својстава (McMullen et al. 2009). Популација створена укршањем 25 генетички различитих инбред линијама са референтном линијом *B73* послужила је за прецизно мапирање цветања (Buckler et al. 2009), архитектуре листа (Tian et al. 2010), отпорности на болести (Kump et al. 2011) и састава зрна (Cook et al. 2012).

Здружено *QTL* и асоцијативно мапирање користи резултате *QTL* мапирања као прелиминарне податке за асоцијативно мапирање у којој се траже везе само унутар оних локуса где су већ утврђене везе маркер - својство *QTL* мапирањем. На тај начин се смањују трошкови генотипске анализе, број маркера и јединки за генотипизацију и повећава вероватноћа проналажења веза, нарочито за *QTL* са малим ефектима. Chardon et al. (2004) су примењујући мета анализу објединили резултате већег броја *QTL* мапирања и открили шест *QTL* за цветање кукуруза који су стабилни у већем броју различитих мапирајућих популација. На основу њихових резултата здруженим *QTL* и асоцијативном анализом четири популације умерене \times тропске генетичке основе, Coles et al. (2010) су издвојили на истим генским регионима четири *QTL* са већим ефектом на фотопериод.

С обзиром на комплексну природу агрономски значајних особина, резултати мапирања, независно од изабраног метода, могу се применити само ако се утврди подобност маркера за селекцију, тј. потврде ефекти *QTL* са којима су маркери у вези у различитим срединама и оплемењивачком материјалу.

4. РАДНА ХИПОТЕЗА

У овој докторској дисертацији се полази од претпоставке да је изабрани сет инбред линија кукуруза довољно дивергентан да обухвати велики број алела на већем броју локуса. Такође се претпоставља да су фенотипски и микросателитски маркери довољно полиморфни за дискриминацију линија по изабраним особинама. Очекује се висок ниво полиморфности у анализираним локусима, као и сагласност груписања испитиваних генотипова кукуруза кластер анализом са њиховим пореклом и педигреима. Очекује се да ће се применом асоцијативне анализе утврдити статистички значајне везе између микросателитских локуса и изабраних агрономских особина проучаваног материјала.

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

5.1 Биљни материјал

Биљни материјал који се користио за истраживање састојао се од 96 инбред линија сврстаних у четири хетеротичне групе (таб. 1). Целокупни биљни материјал део је колекције Института за ратарство и повртарство у Новом Саду и потиче из три оплемењивачке групе (НС инбред линије). Анализирани генотипови кукуруза изабрани су тако да буду прилагођени умереном климату и генетички дивергенти, а чине их линије које потичу од историјски значајних инбред линија, елитних линија које се користе у комерцијалне сврхе и новостворених инбред линија које се налазе у процесу селекције и тестирања. Већа заступљеност *Lancaster* (41) и *BSSS* инбред линија (41) у односу на *Iodent* (7) линије и инбред линије које припадају независном генетичком материјалу (7) последица је њихове веће употребе и значаја у оплемењивачким програмима Института за ратарство и повртарство.

Табела 1. Инбред линије кукуруза коришћене за фенотипску и молекуларну карактеризацију

Линија	Хетеротична група	Опл. група	Линија изведена из или у типу линије
G1	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G2	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G3	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G4	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G5	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G6	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G7	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G8	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G9	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G10	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G11	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G12	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G13	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G14	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G15	Lancaster Sure Crop	1	Mo17
G16	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G17	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G18	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G19	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G20	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G21	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73

G22	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G23	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G24	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G25	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G26	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G27	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G28	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G29	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G30	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G31	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G32	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	1	B73
G33	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G34	Lancaster Sure Crop	2	Mo17, Oh43
G35	Lancaster Sure Crop	3	Mo17
G36	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B14, B73
G37	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G38	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G39	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B14, B73
G40	Lancaster Sure Crop	3	Mo17, C103
G41	Lancaster Sure Crop	3	Mo17, C103
G42	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B14, B37
G43	Iodent	2	Iodent
G44	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G45	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G46	Iodent	3	PH207
G47	Lancaster Sure Crop	3	Mo17
G48	Lancaster Sure Crop	3	Mo17
G49	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G50	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	BSSS Synthetic
G51	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	BSSS Synthetic
G52	Lancaster Sure Crop	3	Mo17, Iodent
G53	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B14
G54	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	B73
G55	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	B73
G56	Независна група	3	егзотичне гермплазме
G57	Независна група	3	егзотичне гермплазме
G58	Lancaster Sure Crop	3	егзотичне гермплазме
G59	Независна група	3	егзотичне гермплазме
G60	Lancaster Sure Crop	2	Oh43
G61	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	BSSS Synthetic
G62	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G63	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B84
G64	Lancaster Sure Crop	2	Iowa Corn Borer Synthetic
G65	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	BSSS Synthetic
G66	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	2	BSSS Synthetic
G67	Lancaster Sure Crop	2	C103
G68	Независна група, европски тврдунци	2	F7
G69	Iodent	2	Iodent
G70	Независна група, европски тврдунци	2	F2

G71	Lancaster Sure Crop	3	C103
G72	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G73	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G74	Iodent	2	Iodent
G75	Независна група	2	непознато
G76	Lancaster - Независна група	2	непознато
G77	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G78	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G79	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G80	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G81	Lancaster Sure Crop	2	Mo17
G82	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B14
G83	Независна група	2	ND250
G84	Lancaster Sure Crop	2	непознато
G85	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G86	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G87	Lancaster Sure Crop	3	Mo17
G88	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G89	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B37
G90	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G91	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G92	Lancaster Sure Crop	3	Mo17
G93	Iodent	3	Iodent
G94	Iodent -Lancaster	3	Iodent - Oh43
G95	Iowa Stiff Stalk Synthetic (BSSS)	3	B73
G96	Iodent	2	Iodent

5.2 План огледа

Оглед је постављен у току две године, 2011. и 2012., по потпуно случајном блок систему са три понављања. Прве године оглед је посејан на три локалитета: Римски Шанчеви, Србобран и Сомбор, док је друге године оглед постављен на Римским Шанчевима и у Србобрану (сл. 1). Сваки генотип је посејан у два реда, 4 метара дужине, са растојањем од 75 cm између редова и са 22 cm између биљака. Густина сетве износила је 60 600 биљака по хектару, а дубина 5 cm. Огледи су посејани 21. априла у Сомбору, 26. априла на Римским Шанчевима и 7. маја у Србобрану 2011. године, док је 2012. године сетва обављена 27. априла на Римским Шанчевима и 1. маја у Србобрану. Око огледа посејан је заштитни појас инбред линије *B73* да би први и последњи рубни редови били у истим условима конкуренције као и редови унутар огледа. У току обе године спроводене су редовне агротехничке мере. Берба у физиолошкој зрелости обавила се ручно, на свакој

парцели на свим локалитетима, након чега су клипови сушени до садржаја воде од 14%.

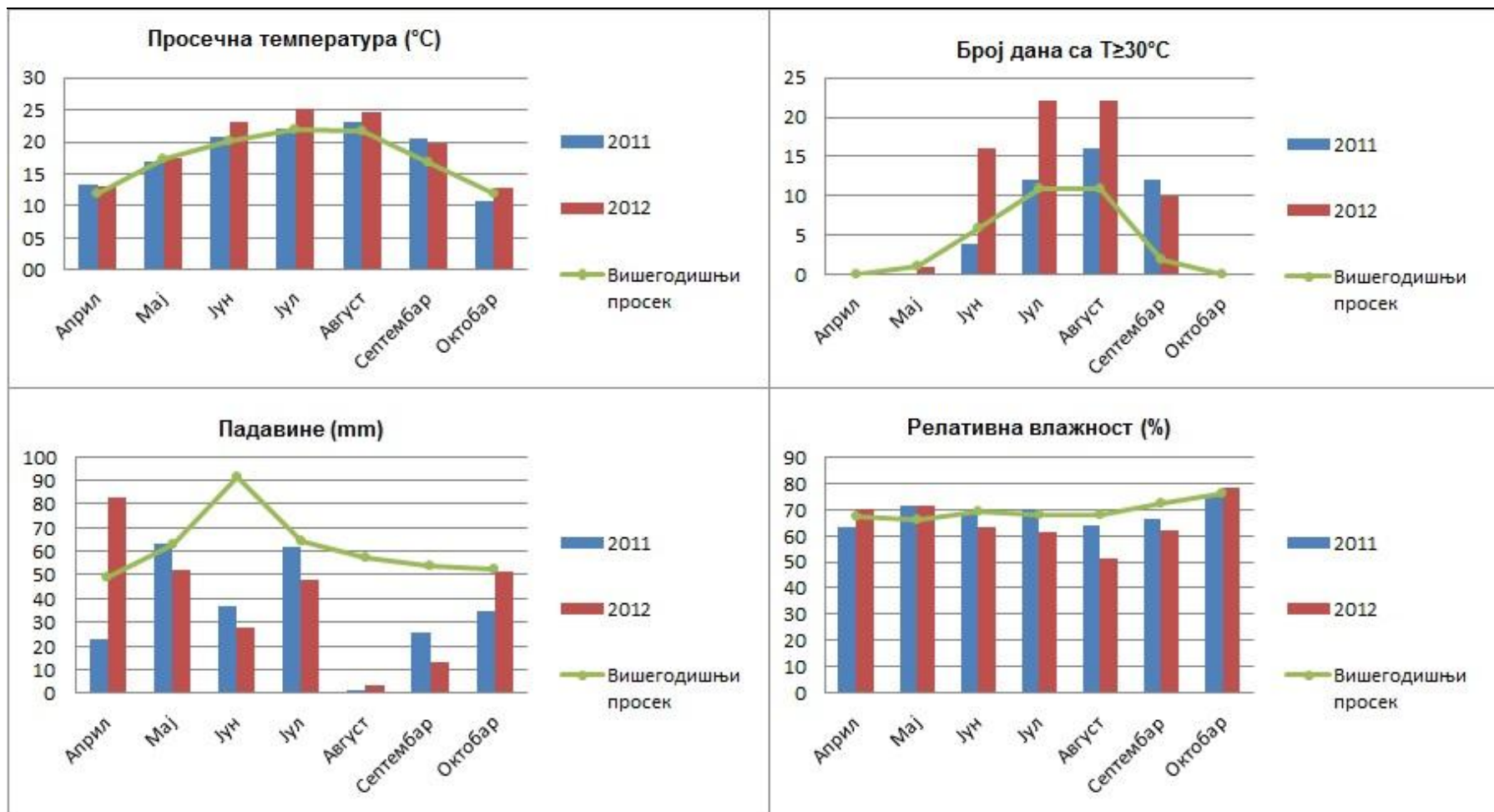


Слика 1. Линије кукуруза посејане на локалитету Римски Шанчеви 2012. године

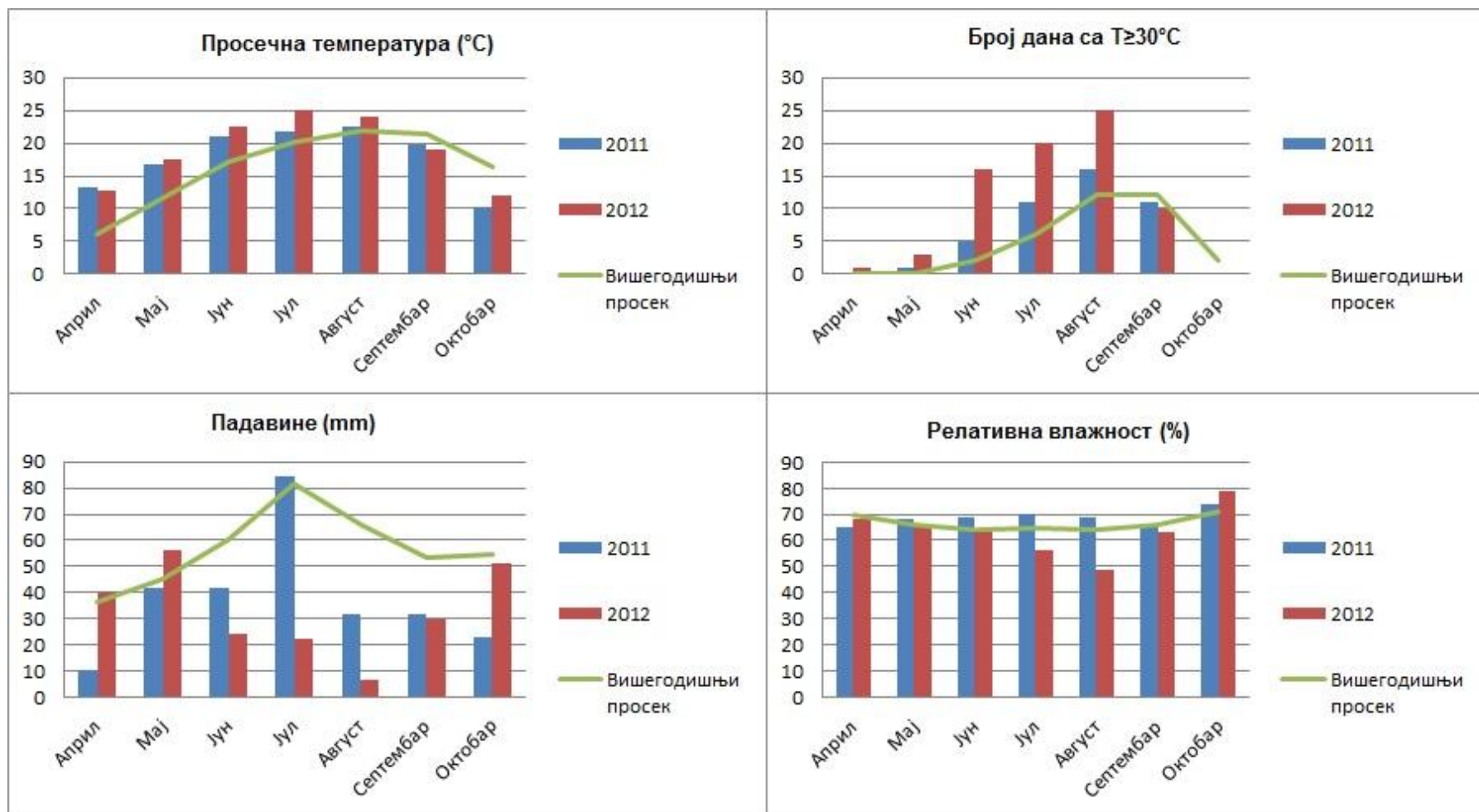
5.3 Агроколошки услови на испитиваним локалитетима

Подаци Хидрометеоролошког завода Србије за локалитете Римски Шанчеви (45° 20' N, 19° 51' E, 84 m), Сомбор (19° 09' E, 45° 46' N, 88 m) и Србобран (45° 33' N, 19° 48' E, 79 m) у току 2011. и 2012. године указали су на појаву суше. На Римским Шанчевима у току вегетационог периода од априла до октобра просечне месечне температуре ваздуха биле су више од вишегодишњег просека, изузев у мају и октобру 2011. године, и то у просеку за 5% током 2011. и за 11% током 2012. године. У Србобрану су просечне месечне температуре ваздуха за дати период биле више од вишегодишњег просека за 9% у 2011. и 14% у 2012., а у Сомбору за 10% у 2011. години. Током 2011. године у периоду од априла до октобра на Римским Шанчевима и у Сомбору забележено је 44 дана са просечном дневном температуром изнад 30°C, што је за 13 дана више од вишегодишњег просека, док је током 2012. године у истом периоду на Римским Шанчевима забележен 71 дан са просечном дневном

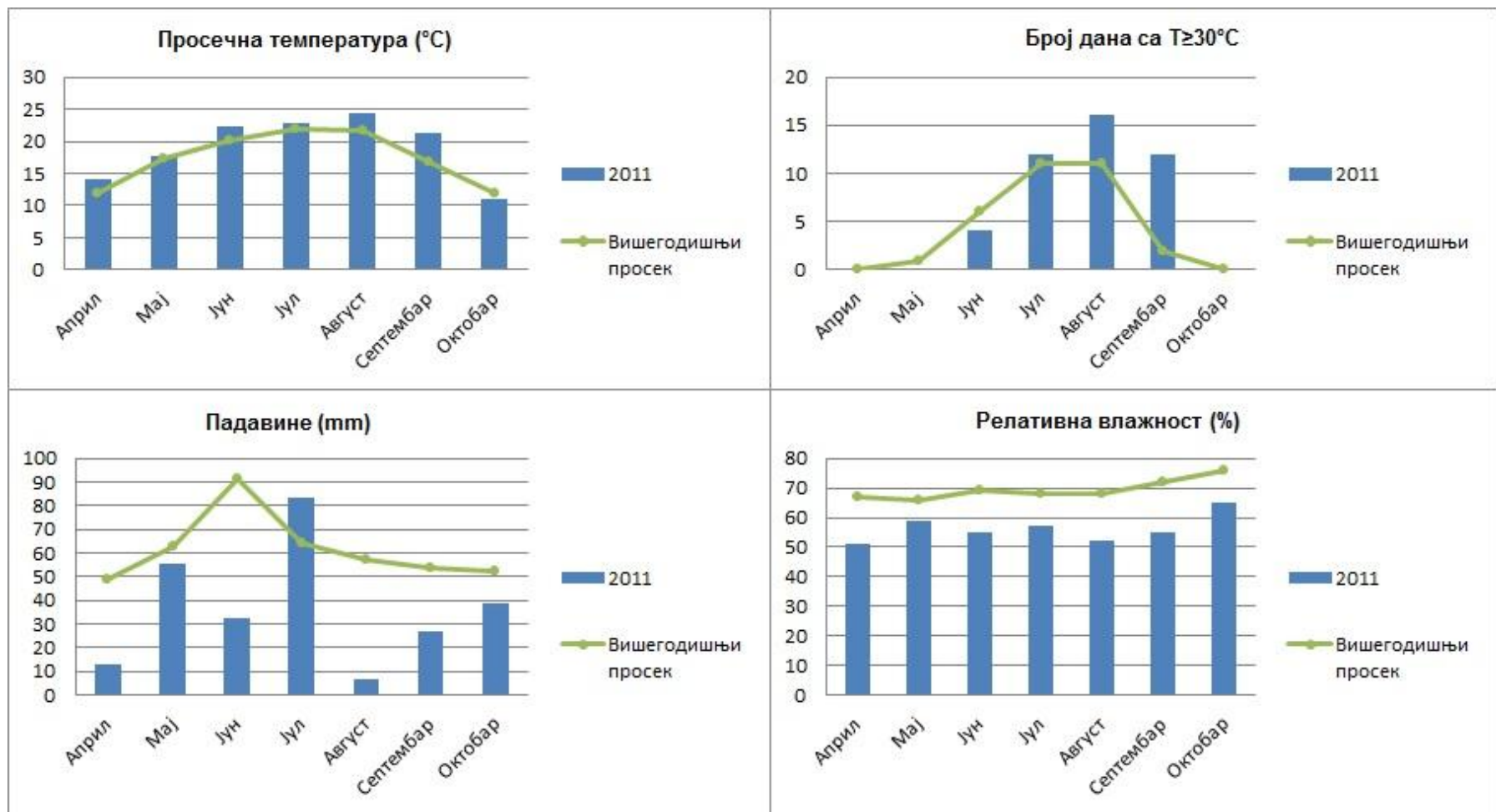
температуром изнад 30°C , односно за 40 дана више од вишегодишњег просека. Сличне вредности утврђене су и за локалитет Србобран, са 13 дана са температурама преко 30°C више од вишегодишњег просека у 2011. и 41 дан у 2012. години. Укупна количина падавина за наведени период измерена 2011. и 2012. на свим локалитетима била је знатно мања у односу на вишегодишњи просек за више од 50%. Просечна релативна влажност ваздуха у јуну, јулу и августу била је нижа од вишегодишњег просека током обе године. Најнеповољнији метеоролошки услови за формирање приноса били су у периоду формирања мушких и женских цвасти, опрашивања, оплодње, наливања и сазревања зрна кукуруза у јуну, јулу и августу (граф. 1, 2 и 3).



Графикон 1. Просечне вредности месечних температура, број дана са температурама преко 30°C , количина падавина и релативна влажност ваздуха од априла до октобра током 2011., 2012. године и за вишегодишњи просек 1981-2011 на локалитету Римски Шанчеви



Графикон 2. Просечне вредности месечних температура, број дана са температурама преко 30°C , количина падавина и релативна влажност ваздуха од априла до октобра током 2011., 2012. године и за вишегодишњи просек 1981-2011 на локалитету Србобран



Графикон 3. Просечне вредности месечних температура, број дана са температурама преко 30°C , количина падавина и релативна влажност ваздуха од априла до октобра током 2011., 2012. године и за вишегодишњи просек 1981-2011 на локалитету Сомбор

5.4 Фенотипска оцена инбред линија кукуруза

Фенотипска оцена инбред линија кукуруза урађена је према *UPOV* и *SIMMYT/ICPGR* дескрипторима за следеће особине: време цветања мушке цвасти (метличење), време цветања женске цвасти (свилање), висина биљке, дужина клипа, пречник клипа, број редова зрна, као и за агрономски значајне особине: период између цветања мушке и женске цвасти, висину биљке до клипа, број листова изнад примарног клипа, укупан број листова, масу 1000 зрна и принос по биљци.

Време цветања мушке цвасти је одређено бројем дана од сетве до појаве прашника на метлицама 50% биљака (*UPOV* 2009).

Време цветања женске цвасти је одређено бројем дана од сетве до појаве тучка (свиле дужине око 2 cm) на 50% биљака (*UPOV* 2009) (сл.2).

Период између цветања мушке и женске цвасти (*Anthesis Silk Interval, ASI*) изражен је у данима од појаве полена на 50% метлица до појаве свиле дужине око 2 cm на 50% клипова.



Слика 2. Појава метлица са антерами и свиле на клипу кукуруза

Висина биљке се мерила од нивоа земље до основе метлице на десет биљака, искључујући биљке на почетку и крају реда, након престанка раста биљака, од фазе млечне зрелости (UPOV 2009).

Висина клипа се мерила од нивоа земље до коленца који носи највиши клип (тзв. примарни клип) на десет биљака, искључујући биљке на почетку и крају реда, након престанка раста биљака, од фазе млечне зрелости (IBPGR 1991, CIMMYT 2009).

Број листова изнад примарног клипа укључујући и лист код клипа избројан је на десет репрезентативних биљака (IBPGR 1991, CIMMYT 2009).

Укупан број листова на десет биљака након цветања, искључујући биљке на почетку и крају реда избројан је на десет репрезентативних биљака (IBPGR 1991, CIMMYT 2009).

Број редова зрна на клипу, број зрна у реду, дужина клипа и пречник централног дела клипа одређен је након бербе на десет примарних клипова биљака (UPOV 2009).

Маса 1000 зрна за сваки генотип је мерена након сушења до 14% влаге (IBPGR 1991, CIMMYT 2009).

Принос по биљци измерен је на десет репрезентативних биљака и изражен средњом вредношћу у g (сл.3).



Слика 3. Берба 10 репрезентативних биљака сваког генотипа кукуруза

5.5 Молекуларна карактеризација инбред линија кукуруза

5.5.1 Екстракција и одређивање концентрације ДНК кукуруза

Геномска ДНК екстрахована је према *CTAB* протоколу, модификованој методи Doyle and Doyle (1990). Од сваког генотипа узет је групни узорак од 10 клијанаца, 7 до 10 дана након постављања на влажну филтер хартију и наклијавања у мраку. Око 2 g ткива клијанаца је мацерирано у течном азоту до финог праха, а затим је у епрувете са биљним материјалом додато 500 μ l *CTAB* екстракционог пуфера (2% *CTAB*, 1.4 M *NaCl*, *DTT* 0.2%, 20 mM *EDTA*, 100 mM *Tris-HCl*, pH=8.0) претходно загрејаног у воденом купатилу на 65°C. Узорци су инкубирани у воденом купатилу на истој температури 30 минута уз повремено благо мешање инверзијом сваких 10 минута. Након инкубације, меши је додато 500 μ l хлороформ:изоамилакохол у односу 24:1 и узорци су центрифугирани 10 минута на 11000 обртаја у минуту. Горња водена фаза пренета је у нове епрувете и додато је 350 μ l леденог изопропанола. Епрувете су мешане лаганим окретањем до појаве кончастих нити ДНК и затим центрифугиране 5 минута на 10000 обртаја у минуту. Након одливања супернатанта, додато је 200 μ l пуфера за испирање (76% етанол, 10 mM *NaOAc*), у епрувете са ДНК која је остала на дну. Узорци су стављени у центрифугу на 10000 обртаја у минуту у трајању од 3 минута, горња фаза је уклоњена, а епрувете са ДНК су стављене у термоблок на сушење. После 1 сата, додато је 50 μ l 0.1xTE пуфера (*Tris-HCl* mM *EDTA*) и растворена ДНК је остављена неколико дана на 4 °C до одређивања концентрације. Узорци ДНК се дугорочно до употребе чувају на -20°C.

Концентрација и квалитет изоловане ДНК одређен је спектрометријском методом на *MBA 2000 (Perkin-Elmer)* спектрофотометру мерењем апсорбанција на таласним дужинама 230, 260 и 280 nm. Концентрација ДНК се израчунава на основу вредности апсорбанције на таласној дужини 260 nm према формули:

$$X (\mu\text{g}/\mu\text{L}) = A_{260} \times R \times 50 / 1000$$

где је:

A_{260} - највећа вредност апсорбције *UV* светлости двоструког ланца ДНК на таласној дужини од 260 nm;

R - фактор разблажења узорка ДНК при читавању апсорбанце;

50 - концентрација 50 μ g/ μ l апсорбанца 1.

Чистоћа узорка се одређује на основу односа $A_{260}:A_{280}$ и $A_{260}:A_{230}$. На таласној дужини од 280 nm највећа је апсорбција протеина, док је на 230 nm највећа апсорбција фенола и соли, попут *EDTA*. Вредности односа $A_{260}:A_{280}$ већи од 1,8 и $A_{260}:A_{230}$ већи од 1,9 означавају да је изолована ДНК слободна од протеина и да се у узорку не налазе друга једињења попут фенола, угљених хидрата и других контаминената.

5.5.2 Микросателитски маркери кукуруза

Од почетних 40 микросателитских маркера који су испитани, за даљу молекуларну анализу изабрано је 36 полиморфних маркера. Четири маркера су изузети из даље анализе због мономорфности и потешкоћа у оптимизацији *PCR* реакције. Изабрани сет од 36 микросателитских маркера који су према литературним подацима (прилог 10, таб. 50) доведени у везу са важнијим агрономским особинама коришћен је за молекуларну карактеризацију. Парови прајмера 36 микросателитских маркера дати су у табели 2.

Табела 2. *SSR* маркери кукуруза, хромозоми на којима се налазе, секвенце њихових прајмера, температура везивања прајмера за ДНК и поновци маркера

Маркер	Хр.	Секвенца левог и десног прајмера	Темп. вез.	Поновак
dupssr26	1	GTCGGAGCACTCCAAGAC CTTCTCGCTCATCAGCTAAA	53 °C	(GA)23
bnlg1556	1	ACCGACCTAAGCTATGGGCT CCGGTTATAAACACAGCCGT	53 °C	AG(18)
umc1035	1	CTGGCATGATCACGCTATGTATG TAACATCAGCAGGTTTGCTCATTC	58 °C	(CT)19
umc1122	1	CACAACCTCCATCAGAGGACAGAGA CTGCTACGACATACGCAAGGC	58 °C	(CGT)7
bnlg1520	2	TCCTCTTGCTCTCCATGTCC ACAGCTGCGTAGCTTCTTCC	53 °C	AG(22)
phi083	2	CAAACATCAGCCAGAGACAAGGAC ATTTCATCGACGCGTCACAGTCTACT	56 °C	AGCT
bnlg125	2	GGGACAAAAGAAGAAGCAGAG GAAATGGGACAGAGACAGACAAT	53 °C	-
umc1025	3	GCTCCACTTCCACCCTGATATG CGCTAATGTCCCCATTGATGAT	56 °C	(CT)11

bnlg1523	3	GAGCACAGCTAGGCCAAAAGG CTCGCACGCTCTCTCTCTT	53 °C	AG(17)
dupssr23	3	TGATCATCATAAGCACACCG CCAATGTGAAGCAAGAGAGAA	56 °C	(GA)2TA(GA)19
phi053	3	CTGCCCTCAGATTCAGAGATTGAC AACCCAACGTACTCCGGCAG	53 °C	ATAC
umc2176	4	ATAGATCTTTGTTCGCGTGTCTCTGC CTCAAGAACACCACCAGACGAGTT	58 °C	(TGC)4
bnlg2291	4	CCTCTCGATGTTCTGAAGCC GTCATAACCTTGCCCTCCCAA	53 °C	AG(17)
umc1109	4	GCAACACAGGACCAAATCATCTCT GTTCCGGTCCGTAGAAGAACTCTCA	56 °C	(ACG)4
umc1022	4	AACAAGTTTTGTTGACAAGCCG ATGATCACCCCGTCAGCG	53 °C	(CA)9
phi093	4	AGTGCCTCAGCTTCATCGCCTACAAG AGGCCATGCATGCTTGCAACAATGG	58 °C	AG
dupssr10	5	AGAAAATGGTGAGGCAGG TATGAAATCTGCATCTAGAAATTG	53 °C	(AC)22
umc1792	5	CATGGGACAGCAAGAGACACAG ACCTTCATCACCTGCAACTACGAC	58 °C	(CGG)5
bnlg1237	5	TGGCGCGATTTCTTCATAT AAAGAGCAACCTTCAACGGA	58 °C	AG(29)
umc1221	5	GCAACAGCAACTGGCAACAG AAACAGGCACAAAGCATGGATAG	56 °C	(CT)7
bnlg238	6	CTTATTGCTTTTCGTCATACACACATTCA GAGCATGAGCTTGCATATTTCTTGTGG	58 °C	-
umc1083	6	CTTTCCTCTCTGGAGCGTATTG ATATGTTGCAGAACCATCCAGGTC	56 °C	(GA)16
umc1014	6	GAAAGTCGATCGAGAGACCCTG CCCTCTCTTACCCCTTCCTT	58 °C	(GA)12
phi034	7	TAGCGACAGGATGGCCTCTTCT GGGGAGCACGCCCTTCGTTCT	58 °C	CCT
umc1944	7	GAAGAAGGATCGCACACATGG AGACTGTCGCGCTGTAATAACCC	56 °C	-
bnlg1792	7	GGGAATGAATAAGCCAAGA GCGCTCCTTACCTTCTTTA	58 °C	AG(16)
umc1075	8	GAGAGATGACAGACACATCCTTGG ACATTTATGATAACGGGAGTTGGA	56 °C	(ATTGC)5
bnlg162	8	ACTAGCAGCAGTAAAACCTAATAAAGGGA CAAGTAGCTAGCAGTCATTTGCAGTGT	56 °C	-

bnlg666	8	AAAAGGCAAGTAGCTAGCATGCATTTGCA GGCTCACGTCCGTATCCAAACCAACA	58 °C	-
umc1360	8	GCTAGTTGAGTTCGACACCAGGTT TGACTGTGACTGTGACTATGACCG	56 °C	(ACA)4
bnlg430	9	CTTACTGAGCATCTTCCTTCTCTCC TCCGGTGATGCTCCAGCGAC	58 °C	-
bnlg1525	9	AGGAATGCGAGTCTTCCAA CAACCCCAAAAATGAACAAA	56 °C	AG(25)
bnlg1209	9	GTCCCGGGCAGAATAATACC TTCCTCCTTGAAGTGCTCGT	53 °C	AG(12)
phi027	9	CACAGCACGTTGCGGATTTCTCT GCGTACGTACGACGAAGACAC	58 °C	GCGCT
umc2003	10	CTCATCGGTTAGCAGCAGCAG GTTCTTAATCGGCACTCCTCGTC	58 °C	-
phi059	10	AAGCTAATTAAGGCCGGTCATCCC TCCGTGTA CT CGGCGGACTC	58 °C	ACC

5.5.3 Ланчана реакција полимеразе

Ланчаном реакцијом полимеразе амплификоване су микросателитске секвенце помоћу флуоресцентно обележених прајмера. Укупна смеша за *PCR* реакцију од 10 μ l састојала се од 2,5 μ l 25 η g геномске ДНК, 1 μ l 0,2 mM *dNTP*, 1 μ l 1x *Taq* *pufera* са *KCl*, 0,8 μ l 2 mM *MgCl₂*, 0,2 μ l 1U *Taq* полимеразе, по 0,5 μ l 0,5 pmol оба прајмера и 3,5 μ l стерилне воде.

PCR програм састојао се из следећих циклуса:

1. почетна денатурација двоструког ланца ДНК на 94 °C у трајању од 5 минута
 2. денатурација на 94°C у трајању од 30 секунди
 3. везивање прајмера за комплементарне циљне секвенце ДНК на температурама специфичним за сваки пар прајмера у трајању од 45 секунди
 4. елонгација, везивање нуклеотида за крајеве оба прајмера на основу комплементарности са секвенцом геномске ДНК која служи као образац на 72 °C у трајању од 45 секунди
 5. завршна фаза екстензије 72 °C у трајању од 7 минута
 6. хлађење реакционе смеше на 4°C
- Кораци 2.- 4. су поновљени у 38 циклуса.

5.5.4 Капиларна електрофореза

Анализа продуката *PCR* урађена је капиларном електрофорезом помоћу аутоматског секвенцера *Applied Biosystems - ABI Prism 3130* (сл. 4). Запремина узорка износила је укупно 10 μl и садржала је смешу од по 2 μl четири *PCR* производа обележена различитим флуоресцентним бојама, 7,8 μl *Hi-Di Formamide (Applied Biosystems)*, 0,2 μl *Size Standard 500 LIZ (Applied Biosystems)*. Непосредно пре капиларне анализе, узорци су денатурисани на 94 °C у трајању од 5 минута. За обраду података коришћен је програм *Data Collection Software Version 3.0 (Applied Biosystems)*, а за одређивање дужине амплификованих ДНК секвенци коришћен је програм *GeneMapper Software Version 4.0 (Applied Biosystems)*.



Слика 4. Капиларна електрофореза на аутоматском секвенцеру *Applied Biosystems - ABI Prism 3130*

5.6 Статистичка обрада молекуларних података кукуруза

Статистика за диверзитет генских локуса израчуната је помоћу програмских пакета *PowerMarker* (Liu 2002), *Genalex* (Peakall and Smouse 2012) и *Arlequin* (Excoffier and Lischer 2010) и описана помоћу следећих показатеља диверзитета:

Диверзитет алела се изражава као просечни број алела по локусу.

Ефективни број алела (N_e) је теоријски број алела са једнаким фреквенцијама који би дао исту вредност очекиване хетерозиготности која је израчуната на основу измерених фреквенција алела за дати локус. Ефективни број алела се рачуна према формули (Kimura and Crow 1964):

$$N_e = 1/\sum p_i^2$$

и може бити једнак или мањи од утврђеног броја алела. Уколико су ефективни број алела и утврђени број алела исти, сви алели датог локуса имају исте фреквенције.

Број ретких алела се односи на алеле чија је фреквенција мања од 5% (Hirschhorn and Daly 2005).

Шенонов индекс се корисити за изражавање диверзитета алела једног локуса. Индекс узима у обзир не само број алела, већ и њихову процентуалну заступљеност у локусу. Одређује се за сваки локус према формули:

$$H = -\sum p_i \ln p_i \quad (i = 1 \text{ до } N_a)$$

где је p_i фреквенција i -тог алела, а N_a укупан број алела датог локуса (Shannon and Weaver 1949).

Диверзитет гена или очекивана хетерозиготност се дефинише као вероватноћа да су два насумично изабрана алела неког гена различити, односно да је индивидуа хетерозиготна за дати локус. Означава удео хетерозиготних јединки који се очекује за дати локус у популацији и оцењује се за сваки локус према формули јапанског популационог генетичара Неи Масатошија (Nei and Roychoudhury 1974):

$$H_e = n(1 - \sum p_i^2)/(n-1)$$

где је n величина узорка, а p_i фреквенција i -тог алела. С обзиром да очекивана хетерозиготност показује удео хетерозигота под претпоставком Харди-Вајнбергове равнотеже, за популација које се не налазе у слободној оплодњи, као што су инбрид линије користи се њен непристрасни оценитељ H_e (Weir 1989) које се добија дељењем H_e са $1-(1+F/n)$, где је F коефицијент инбридинга, а n број јединки.

Запажена хетерозиготност локуса (H_o) одређује се дељењем броја хетерозигота за дати локус са укупним бројем хетерозигота и хомозигота.

Полиморфност појединачних локуса (*Polymorphism Information Content; PIC*) показује моћ неког маркера да детектује полиморфизам у популацији. Зависи од броја утврђених алела и дистрибуције њихових фреквенција, а рачуна се према формули (Botstein et al. 1980):

$$PIC_j = 1 - \sum p_i^2$$

где су p_i фреквенције i -тог алела j -тог маркера; и узима вредности од 1 до укупног броја алела (N_a), а j узима вредност од 1 до укупног броја маркера (n).

Коефицијент инбридинга или индекс фиксације F изражава вероватноћу да су два алела једног локуса идентични по свом пореклу. Када је F вредност једнака 1, алели једног локуса су идентични, односно наслеђени су од заједничког претка. Вредност коефицијента инбридинга 0 указује на хетерозиготност локуса и непостојање инбридинга.

Коефицијент F_{st} показује удео укупне генетичке варијансе која је садржана у потпопулацији (групи) и има вредности од 0 до 1. Велике вредности тог коефицијента указују на значајну диференцијацију између потпопулација. Коефицијент F_{is} показује пропорцију варијансе потпопулације коју садрже јединке те потпопулације, а његове велике вредности указују на велики проценат инбридинга (Wright 1978).

Кластер анализа генотипова кукуруза

Три независне кластер анализе су примењене на генотипским подацима кукуруза добијене применом молекуларних маркера: кластер анализа заснована на параметријском моделу, *UPGMA* модел и анализа главних координата.

Структура популације инбред линија кукуруза применом параметријског модела

За утврђивање популационе структуре одабраних генотипова коришћен је програм *STRUCTURE 2.3.4* (Pritchard et al. 2000) који се заснива на параметријском моделу дистрибуције фреквенција непознатог броја популација. Овај програм примењује Бајесов алгоритам за одређивање броја кластера или група, придруживање генотипова групама и утврђивање оних генотипова који се могу распоредити у више група. Алгоритам (*Markov Chain Monte Carlo; MCMC*) придружује инбред линије групама који имају карактеристични скуп фреквенција алела за сваки локус, при чему локуси теже Харди-Вајнберговој и гаметској равнотежи. Груписање генотипова је урађено на основу независних фреквенција алела 36 независних микросателитских маркера. Примењен је мешовити модел који подразумева да један генотип може припадати једној групи или више њих, уколико делови генома потичу из више изворних популација (Falush et al. 2003). Постављени параметри дужине анализе и

број понављања процеса за тачну процену параметара износили су 100.000 x 100.000 понављања. Ламбда, параметар Дирихлеове дистрибуције фреквенција алела, постављен је на почетну вредност 1, означавајућу да генотипови могу потицати из више популација. Очекивани број група задат је у распону од 1 до 6 и за сваку очекивану групу урађено је пет независних анализа, понављања. Број група је процењен на основу вредности логаритма вероватноће података (фреквенције алела) $L(K)$ за сваку групу. $L(K)$ представља средњу вредност логаритма вероватноће података за сваки корак МСМС алгоритма умањена за половину своје варијансе. Број група одређен је помоћу два метода. Први метод захтева уношење у координатни систем очекивани број група K на апсиси и логаритам вероватноће на ординати. Број група одговара броју K при којем је вредност логаритма вероватноће достигла плато или се незнатно повећала. Други метод одређивања броја група урађен је према Evanno et al. (2005) на основу промене вероватноће другог реда (ΔK) са променама узастопних K , где је ΔK :

$$\Delta K = \left| \text{avg} [L(K+1)] - 2 \times \text{avg} [L(K)] + \text{avg} [L(K-1)] \right| / \text{sd} [L(K)]$$

avg означава средњу вредност, sd стандардну девијацију, K број група. Број група једнак је оном броју очекиваних група K за који је вредности ΔK највећа. Резултат анализе је представљен Q матрицом за одређени број група (највећу вредност ΔK), која се састоји од процењених коефицијената припадности сваке инбред линије свакој групи. Добијена Q матрица је послужила за утврђивање веза агрономских својстава и микросателитских локуса у програму *TASSEL* (Thornsberry et al. 2001, Bradbury et al. 2007).

UPGMA модел анализе генотипова кукуруза

Други приступ за одређивање популационе структуре заснован је на Еуклидовим одстојањима и урађен је у програму *PowerMarker v3.25* применом непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic mean; UPGMA*, Sokal and Michener 1958). *UPGMA* алгоритам проналази најмање одстојање између два објекта и групише их у кластер, а затим рачуна одстојање новог кластера у односу на остале, повезујући их у већи кластер и тако даље формирајући тзв. кладограм. Еуклидско одстојање рачуна се према формули:

$$D_{EU} = \frac{1}{m} \sum_j \sqrt{\sum_i^{a_j} (p_{ij} - q_{ij})^2}$$

где су p_{ij} и q_{ij} фреквенције i -тог алела j -тог локуса, док је a_j број алела j -тог локуса, а m је број анализираних локуса. Овај хијерархијски метод израчунава одстојање између објеката при чему сви парови имају једнак допринос - нису пондерисани, формира групе које се састоје од само два објекта, а одстојање између било која два кластера представља аритметичку средину одстојања између свих парова објеката из два кластера. Одстојања су заснована на фреквенцијама алела између инбред линија кукуруза представљена су кладограмом који је добијен у програму *Dendroscope 2.7.4* (Huson et al. 2007).

Анализа главних координата генотипова кукуруза

Анализа главних координата (*Principal Coordinate Analysis; PCoA*) је примењена у програму *XLSTAT 2010* (*Addinsoft, New York, USA; <http://www.xlstat.com>*) како би се пронашли и представили односи између инбред линија, односно елемената матрице одстојања, на основу главних координата.

Почетна матрица различитости између сваког пара инбред линија анализирана је тако да се свакој n инбред линији додели $n-1$ координата које га представљају у вишедимензионалном $n-1$ простору (Gower 1966). Координате су *eigen* вектори матице одстојања, а *eigen* вредности пропорција обухваћене варијансе.

Положај инбред линија у дводимензионалном простору одређен је тако да се што мање изгуби изворних информација и да геометријска растојања између линија буду еквивалентна генетичким растојањима.

5.7 Статистичка обрада фенотипских података кукуруза

Дистрибуције фреквенција фенотипских особина инбред линија кукуруза поређене су са нормалном дистрибуцијом у статистичком програму *StatSoft, Inc.* (2013) *STATISTICA v. 12*. Код дистрибуција фреквенција које су одступале од нормалне дистрибуције урађене су одговарајуће трансформације (\log_{10} , x^2 , \sqrt{x}) у зависности од типа података, како би следиле нормалну дистрибуцију, и након анализе трансформисаних података, добијени резултати су повратном, обрнутом трансформацијом приказани у изворном облику.

Дескриптивна статистика израчуната је за сва анализирана фенотипска својства и обухватала је: средњу, минималну и максималну вредност, разлику између минималне и максималне вредности (опсег), стандардну грешку аритметичке средине, варијансу и коефицијент варијације.

Анализа варијансе је примењена да испита значајност разлика варијанси испитиваних особина између генотипова, локалитета и година применом програма *XLSTAT 2010* (*Addinsoft, New York, USA; <http://www.xlstat.com>*)

Линеарне корелације између мерених квантитативних особина утврђене су помоћу Пирсоновог коефицијента корелације (Snedecor and Cochran 1967). Усвојена је Евансова подела корелације између особина по интензитету на основу вредности Пирсоновог коефицијента r^2 при чему је:

$r^2 = 0,00-0,19$ - веома слаба,

$r^2 = 0,20-0,39$ – слаба,

$r^2 = 0,40-0,59$ – средња јака,

$r^2 = 0,60-0,79$ – јака и

$r^2 = 0,80-1,00$ веома јака корелација (Evans 1996).

Кластер анализа генотипова кукуруза на основу фенотипских података урађена је у програму *STATISTICA 12* применом непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином и заснована је на Еуклидском растојању.

Мултиваријациона *анализа главних компоненти* примењена је у циљу смањивања већег броја почетних променљивих, најчешће у корелацији, на мањи број некорелисаних променљивих тзв. главних компоненти, задржавајући највећу могућу варијабилност. Смањујући број променљивих на главне компоненте олакшан је визуелни приказ и тумачење података. Подаци су представљени дводименционално двема главним компонентама које су садржала највећи део варијансе почетног скупа променљивих. Због разлика у варијансама променљивих и осетљивости метода на различиту дисперзију, мерне скале и јединице променљивих, анализа главних компонената примењена је на фенотипску корелациону матрицу у програму *GeneAlex* (Peakall and Smouse 2012).

5.8 Асоцијативна анализа инбред линија кукуруза

Анализа гаметске неравнотеже урађена је у програму *TASSEL 2.1*. применом Фишеровог егзактног теста и представљена преко следећих параметара:

D' – стандардизовани коефицијент неравнотеже који мери неслучајне везе тј., наслеђивање алела различитих локуса, и не зависи од фреквенција алела,

r^2 –квадрат вредности коефицијента корелације између алелних фреквенција два локуса

p - вредност вероватноћа гаметске неравнотеже за Фишеров егзактни тест за сваки микросателитски пар одређена са 1000 пермутација (Weir 1996).

Везе између маркера и особина утврђене су применом општег линеарног модела (*General Linear Model; GLM*) и мешовитог линеарног модела (*Mixed Linear Model; MLM*) у програму *TASSEL 2.1* (Bradbury et al. 2007).

Општим линеарним моделом одређене су везе између маркера и средњих фенотипских вредности применом процењених вредности припадности популацијама (Q) као коваријабли којима се контролише структура популације, не узимајући у обзир сродство као могући узрок веза између генотипа и фенотипа. За сваку комбинацију маркер-особина у општем линеарном моделу коришћен је метод најмањих сума квадрата према Searle (1987).

Мешовити линеарни модел у асоцијативну анализу поред структуре популације укључује и сродство, смањујући тиме грешку првог реда. Матрица сродности (K) добијена је на основу молекуларних података о пропорцији заједничких алела насумично изабраних маркера дуж целог генома који дели сваки пар генотипова. Код мешовитог линеарног модела, матрица сродности добијена је у програму *TASSEL* и коришћена је са матрицом процењених коефицијената припадности популацији из програма *STRUCTURE* за поправку структуре фамилија и популације. Модел је третирао маркере и структуру популације као фиксне ефекте, док су позадински *QTL*, који нису били везани за маркере, били посматрани као случајни ефекти. Везе између маркера и особина које су применом F теста имале вредност мању од 0,05 и 0,01 биле су статистички значајне на нивоу значајности 95% и 99%. Тест пермутације је примењен да генерише p вредности које не зависе од дистрибуције с обзиром да тест значајности за F дистрибуцију подразумева да грешка остатка има нормалну дистрибуцију. Добијени ефекти маркера нису рапчлањени на

адитивне и доминантне ефекте већ су тестирани на укупну значајност (Bradbury et al 2007). Коефицијент детерминације R^2 је рачунат да покаже удео фенотипске варијабилности који објашњавају молекуларни маркери. Ефекат алела на фенотип је оцењен поређењем просечне фенотипске вредности генотипова који носе одређени алел и просечне фенотипске вредности свих генотипова:

$$a_i = \sum x_{ij} / n_i - \sum N_k / n_k$$

где је: a_i - фенотипски ефекат i -тог алела; x_{ij} - фенотипска вредност j -тог генотипа са i -тим алелом; n_i - број генотипова са i -тим алелом; N_k - фенотипска вредност свих генотипова; n_k - број генотипова. Када је вредност $a_i > 0$, алел има позитиван ефекат на посматрано својство, док су вредности $a_i < 0$ указују на негативан ефекат алела (Breseghello and Sorrells 2006, Zhang et al. 2013).

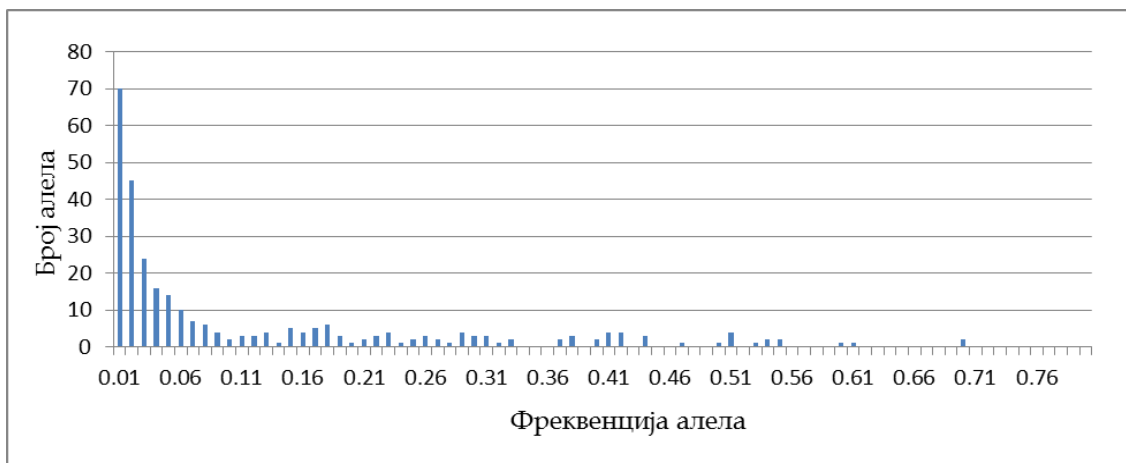
6. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

6.1 Генетичка варијабилност микросателитских маркера кукуруза

Од почетних 40 испитаних микросателитских маркера, четири маркера су изузети из даље анализе због мономорфности и потешкоћа у оптимизацији *PCR* реакције. Маркер *umc1019* је код свих генотипова кукуруза умножио производе дужине 93 базних парова, док су *umc1019*, *nc005*, *bnlg1451* и *bnlg1067* дали неспецифичне производе при различитим параметрима *PCR* реакције у више понављања. За даљу молекуларну анализу изабрано је 36 полиморфних маркера.

Основни показатељи генетичке варијабилности микросателитских маркера кукуруза представљени су у табели 3. Тридесет и шест парова прајмера амплификовало је укупно 297 алела, просечно осам алела по локусу. Након издвајања алела са фреквенцијом мањом од 5%, сваки локус је у просеку имао четири алела. За 0,4% узорака нису одређени алели због непостојаности дужине производа и неправилних пикова. Такође је утврђено 0,2% нултих алела код којих није дошло до везивања прајмера за ДНК ланац. Просечни број ефектних алела био је 3,6. Највећи број алела имао је маркер *umc1035*, док су маркери *phi083*, *umc1109*, *umc1075*, *phi093*, *phi027*, *phi059* и *umc1360* имали најмањи број алела. Ретки алели са фреквенцијом мањом од 5% били су заступљени у просеку 8,5% по локусу. Највећи проценат ретких алела имао је маркер *umc1035*, трећину својих алела, док маркери *phi083*, *phi093* и *umc1360* нису имали ретке алеле. Већина алела је имала мале фреквенције (граф. 4).

Већина маркера се показала као веома полиморфна. Трећина испитиваних локуса имала је осам и више алела, више од четири ефективних алела, очекивану хетерозиготност преко 0,75 и *PIC* вредност изнад 0,72. Шест маркера је имало *PIC* вредност испод 0,5. Маркери са динуклеотидним поновцима су у просеку имали већу полиморфност (*PIC* 0,67), од маркера са три-, четворо-, и петонуклеотидним поновцима (*PIC* 0,57, 0,58 и 0,53, редом). Просечна вредност непристрасне очекиване хетерозиготности износила је 0,69, док је уочена хетерозиготност била 0,0009. Четири локуса нису била хомозиготна код свих испитиваних линија кукуруза, те просечни коефицијент инбридинга за све локусе био је 0,998.



Графикон 4. Дистрибуција фреквенције алела инбред линија кукуруза

Диверзитет локуса изражен Шеноновим индексом износио је у просеку 1,5, а кретао се од 0,899 до 2,457. Вредности Шенонов индекс изнад 2 биле су особене за локусе велике полиморфности са бројем алела ≥ 12 , док су вредности индекса испод 1 указале на присуство мањег броја алела или већег броја ретких алела. Тако је, на пример, маркер *umc1022*, код којег је утврђено шест алела, имао вредност Шеноновог индекса мању од маркера са мањим бројем алела, због неуједначене расподеле фреквенција алела. Само 3 алела овог маркера имали су фреквенције веће од 5%, од којих један чак 70%. Маркери *umc1360*, *phi093* и *phi083*, са равномерно заступљена четири алела, имали су већи Шенонов индекс од маркера са истим бројем алела (*phi027* и *phi059*), али неједнаким фреквенцијама. Четири маркера (*umc1035*, *bnlg666*, *dupssr10* и *bnlg162*) имала су алеле који су били јединствени за више од 10% инбред линија.

Табела 3. Параметри генетичког диверзитета 36 микросателитских локуса кукуруза

Locus	N	Na	Ne	H	Ho	He	uHe	F	PIC	Nra	%ra
dupssr26	96	6	2,281	1,049	0,000	0,562	0,565	1,000	0,51	3	3,0
bnlg1520	96	7	2,862	1,296	0,000	0,651	0,654	1,000	0,59	3	10,4
phi083	96	4	2,593	1,129	0,000	0,614	0,618	1,000	0,56	4	0,0
bnlg1556	96	11	5,143	1,877	0,000	0,806	0,810	1,000	0,78	6	7,3
dupssr10	96	18	6,024	2,271	0,000	0,834	0,838	1,000	0,83	6	25,8
bnlg1209	96	10	3,434	1,610	0,000	0,709	0,712	1,000	0,68	3	18,7
bnlg2291	96	10	4,014	1,706	0,000	0,751	0,755	1,000	0,72	5	11,5
bnlg162	96	11	5,333	1,921	0,000	0,813	0,817	1,000	0,79	5	15,6
umc1109	96	4	2,463	1,028	0,000	0,594	0,597	1,000	0,53	3	1,0
umc1075	96	4	2,966	1,129	0,010	0,663	0,666	0,984	0,59	3	1,0
umc1025	96	8	4,571	1,711	0,000	0,781	0,785	1,000	0,75	5	8,3
bnlg1523	96	9	1,923	1,117	0,000	0,480	0,483	1,000	0,46	3	12,5
dupssr23	96	10	3,640	1,605	0,000	0,725	0,729	1,000	0,68	4	10,6
bnlg1525	96	13	5,278	2,007	0,000	0,811	0,815	1,000	0,79	6	14,6
umc2176	96	7	2,704	1,242	0,000	0,630	0,634	1,000	0,58	3	7,2
umc1014	96	8	4,805	1,727	0,000	0,792	0,796	1,000	0,76	5	7,3
umc1792	96	5	2,517	1,109	0,000	0,603	0,606	1,000	0,54	3	5,2
umc1035	96	21	7,481	2,457	0,000	0,866	0,871	1,000	0,85	4	34,4
bnlg1792	96	8	3,169	1,382	0,000	0,684	0,688	1,000	0,63	3	9,4
umc2003	94	6	3,060	1,240	0,000	0,673	0,677	1,000	0,61	3	4,3
bnlg430	96	5	2,321	1,099	0,000	0,569	0,572	1,000	0,53	4	1,0
phi093	95	4	2,974	1,198	0,000	0,664	0,667	1,000	0,60	4	0,0
bnlg1237	96	7	2,297	1,012	0,000	0,565	0,568	1,000	0,47	2	7,3
phi053	96	6	3,122	1,304	0,000	0,680	0,683	1,000	0,62	3	6,2
phi034	96	5	2,326	0,990	0,010	0,570	0,573	0,982	0,48	3	3,1
umc1122	94	9	5,954	1,953	0,021	0,832	0,837	0,974	0,81	5	12,0
phi027	92	4	2,257	0,926	0,000	0,557	0,560	1,000	0,46	2	6,5
phi059	93	4	2,216	0,899	0,000	0,549	0,552	1,000	0,45	2	5,4
bnlg666	96	15	4,504	1,968	0,000	0,778	0,782	1,000	0,76	6	13,5
bnlg238	96	12	5,961	2,042	0,000	0,832	0,837	1,000	0,81	8	5,2
bnlg125	96	11	3,018	1,558	0,000	0,669	0,672	1,000	0,63	3	19,1
umc1221	96	8	4,107	1,641	0,000	0,757	0,760	1,000	0,73	5	5,2
umc1360	96	4	2,771	1,158	0,000	0,639	0,642	1,000	0,58	4	0,0
umc1944	93	6	3,393	1,390	0,000	0,705	0,709	1,000	0,65	3	11,0
umc1022	96	6	1,892	0,974	0,010	0,472	0,474	0,978	0,40	3	4,4
umc1083	89	10	3,866	1,602	0,000	0,741	0,746	1,000	0,71	4	10,5

N-величина узорка, *Na*-број алела, *Ne*-број ефективних алела, *H*-Шенонов индекс, *Ho*-запажена хетерозиготност, *He*-очекивана хетерозиготност, *uHe*- непристрасна очекивана хетерозиготност, *F*- индекс фиксације, *PIC*- показатељ полиморфности, *Nra*-број ретких алела чије су фреквенције веће или једнаке 5%, *%ra* - сума фреквенција ретких алела по локусу

Релативно велики број детектованих алела са мањим бројем маркера указује на велику полиморфност изабраних *SSR* маркера и на велики диверзитет испитаних инбрид линија. Просечан број алела одређен са 36 микросателита у 96 инбрид линија износио је 8,3. Dubreuil et al. (1999) су у узорку од 116 инбрид линија пронашли мањи број алела по локусу (5,9 алела), док су Rebourg et al. (1999) утврдили 6,6 алела по локусу у узорку од 65 популација применом 34 *RFLP* маркера. Мањи број откривених алела у већем узорку инбрид линија и популацијама кукуруза може бити резултат мање дивергентности изабраних генотипова или мање полиморфности *RFLP* маркера у односу на *SSR* маркере. Значај величине и дивергентности узорка као и броја и полиморфности маркера потврђују истраживања Liu et al. (2003), који су анализом 260 инбрид линија из тропског, суптропског и умереног климата установили просечно 21,7 алела помоћу 96 *SSR* маркера, Yang et al. (2011) који су утврдили просечно 8,2 алела у 154 инбрид линије и van Inghelandt et al. (2010), који су детектовали просечно 14,6 алела међу 1537 инбрид линија кукуруза. Просечан број од 6,3 алела по локусу утврдили су Li et al. (2006) међу 46 инбрид линија са 64 *SSR* маркера. Lu and Bernardo (2001) су са 83 микросателита пронашли просечно 4,9 алела у 40 инбрид линија, објашњавајућу мали број алела уском генетичком основном анализираних генотипова који потичу од свега осам родитељских линија и у мањој мери малом величином узорка. С обзиром на то да је у овом раду утврђен релативно велики број алела у поређењу са бројем анализираних генотипова, можемо закључити да су коришћене инбрид линије значајан извор генетичког диверзитета.

Велики број алела резултат је и великог удела динуклеотидних маркера, око две трећине изабраних маркера. Динуклеотидни маркери имају највећу фреквенцију мутације и самим тим су полиморфнији од тро-, четворо- и петонуклеотидних маркера (Vigouroux et al. 2005). У овом истраживању, маркери са динуклеотидним поновцима су у испитиваним линијама кукуруза просечно имали већу *PIC* вредности од маркера са три-, четворо-, и петонуклеотидним поновцима што је у сагласности са резултатима Li et al. (2006) и Enoki et al. (2002). Објашњење за ову појаву дали су Chambers and MacAvoy (2000) који су утврдили да приликом *PCR* реакције може доћи до склизвања полимеразе низ ДНК ланац и прескакања репликације једног или више поновака доводећи до амплификације краћих производа од нормално умноженог ДНК сегмента. Овакве грешке, према Edwards et al. (1991), чешће су код *SSR* маркера са два поновка и често отежавају правилну идентификацију алела. Да би

се избегло прецењивање броја алела, односно утврђивања већег броја алела од постојећих због грешака у репликацији, *PCR* реакције су понављане, нарочито код узорака где су утврђени ретки алели.

На тачну процену фреквенција алела, може да утиче и појава нултих алела и већи проценат неуспелих *PCR* реакција због чега подаци о алелима за такве локусе недостају (Dubreuil et al. 2006). Изузев маркера *umc1083* код којег је утврђено 11% нултих алела и алела који се нису могли детектовати, фреквенција нултих алела код осталих шест маркера (*umc2003*, *phi093*, *umc1122*, *phi027*, *phi059* и *umc1944*) кретала се од 1 до 4% и није била довољно велика да утиче на коначну расподелу фреквенција алела. Велики број детектованих алела је, такође, резултат веће резолуције и моћи детекције коришћене капиларне електрофорезе у односу на агарозни или полиакриламидни гел, што је нависше изражено код алела који се разликују у малом броју нуклеотида (2-5).

Просечна *PIC* вредност, показатеља полиморфности маркера, износила је 0,64 и није знатно одступала од *PIC* вредности у другим истраживањима, указујући на информативност изабраних маркера. Reid et al. (2011) су утврдили *PIC* вредност 0,68 за 105 микросателита код 129 инбред линија, Li et al. (2006) 0,66 за 64 маркера и 46 инбред линија, а Smith et al. (1997) су код 62 генотипа анализираних са 131 маркером израчунали *PIC* вредност 0,62. Само шест маркера је имало *PIC* вредност испод 0,5 вредности која се сматра граничном да би маркер био довољно информативан за генотипску анализу (Suteu et al. 2014).

Полиморфност коришћених маркера одређена је и знатним бројем ретких алела (8,5% по локусу). На неуједначене расподеле фреквенција алела услед присуства ретких алела указују и ниже вредности Шеноновог индекса код локуса који су имали већи број алела од просечног, попут маркера *bnlg1523* и *bnlg125*. На ову појаву указује и број ефективних алела који је за локусе који имају велики проценат ретких алела знатно мањи од утврђеног броја алела.

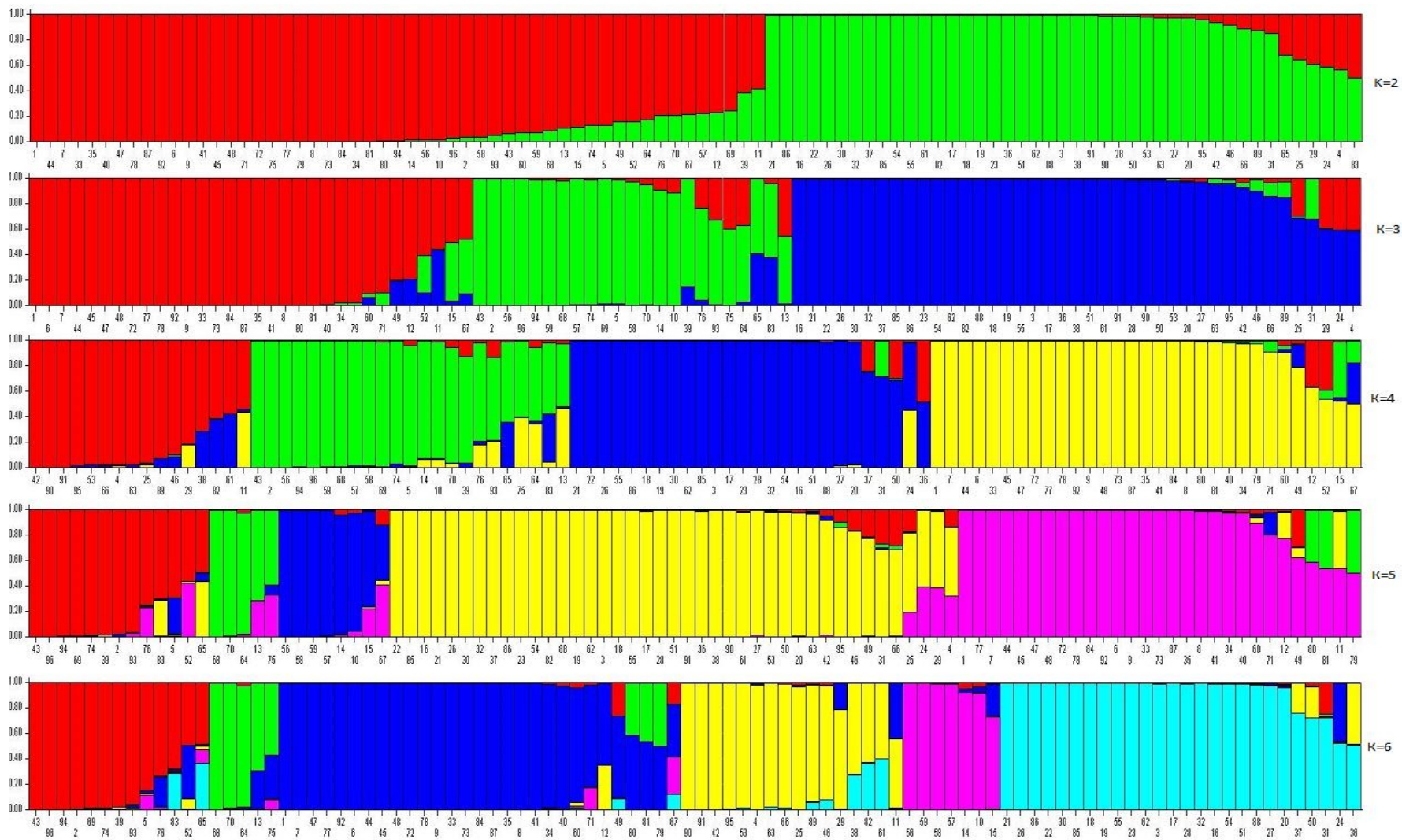
Просечна вредност уочене хетерозиготности била је ниска, док је просечни коефицијент инбридинга за све локусе био близу највеће теоријске вредности 1, што је очекивано, с обзиром на хомозиготну природу инбред линија. Велика полиморфност коришћених маркера указује на њихов велики значај за утврђивање диверзитета почетног генетичког материјала као полазне основе за оплемењивање, фингерпринтинг елитних инбред линија и заштиту интелектуалне својине, на

погодност маркера за дискриминацију генотипова кукуруза и генотипизацију, тј. молекуларну евалуацију.

6.2 Анализа структуре популације кукуруза заснована на параметријском моделу

Структура популације кукуруза је утврђена за сет од 96 инбред линија у програму *STRUCTURE* за претпостављени број кластера (група) од 1 до 6 и са пет понављања за сваки кластер. Процењени коефицијенти припадности генотипова свакој групи израчунати су за сваку задату претпостављену групу (од $K=2$ до $K=6$). Свака инбред линија је представљена вертикалном линијом која је се састоји од 1 до K обојена сегмента. Дужина сваког обојеног сегмента је пропорционална уделу K група у геному дате инбред линије (граф. 5).

С озбиром на то да програм *STRUCTURE* не одређује сâм стваран број група, број група је одређен помоћу метода највеће вероватноће и Евановог модела.



Графикон 5. Хистограми процењених коефицијената припадности генотипова кукуруза за две, три, четири, пет и шест група К

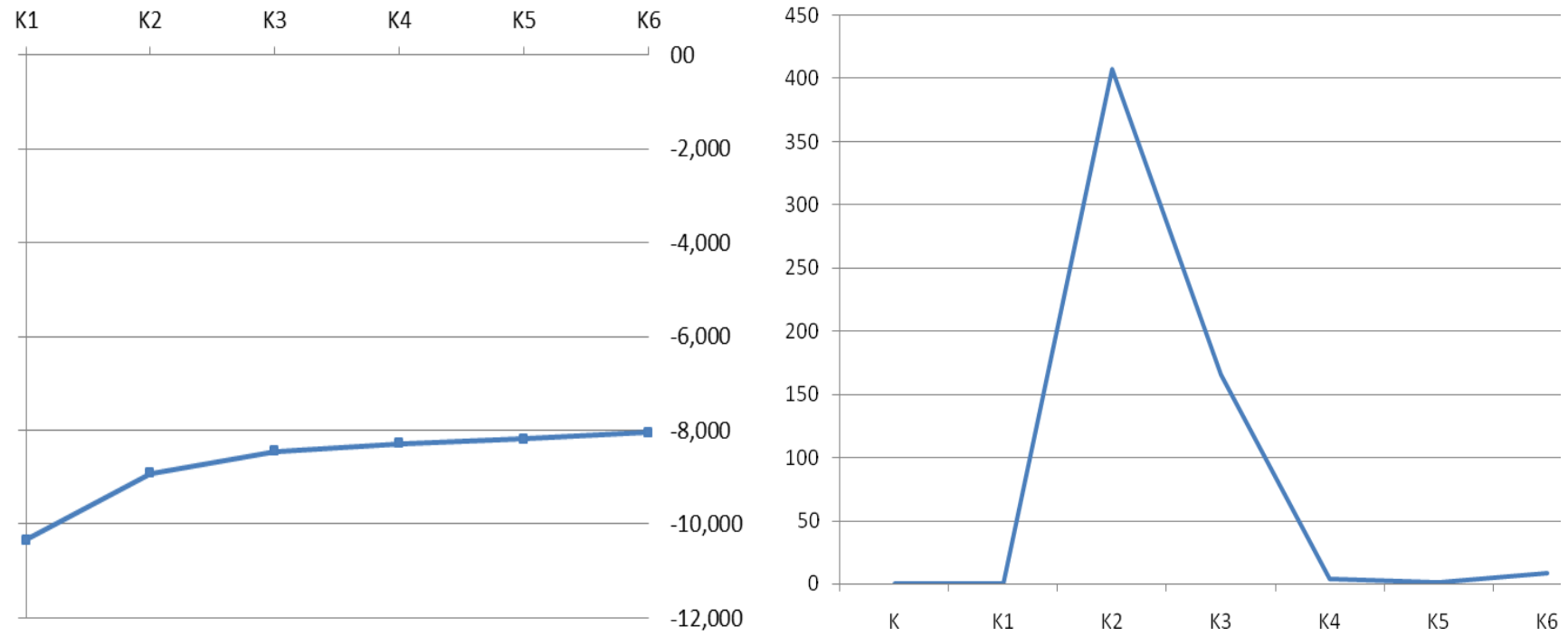
Метод највеће вероватноће процењује број група на основу вредности логаритма вероватноће фреквенције алела $L(K)$ за сваки кластер. Број кластера одређен је уношењем у координатни систем очекивани број кластера K на апциси и логаритам вероватноће на ординати. Највећи пораст логаритма вероватноће достигнут је при вредности $K=2$ (таб. 4), док је са повећавањем броја кластера, логаритам вероватноће тек благо растао што указује на постојање две групе у датом сету генотипова (граф. 6).

Табела 4. Стандардна девијација и средња вредност логаритма вероватноће кластера K , $L(K)$ и ΔK

K	SdL(K)	L(K)	L'(K)	L''(K)	L''(K)	ΔK
K1	0,264575131	-10333,8	0	0	0	0,00
K2	2,345918441	-8912,1	1421,7	-955,9	955,9	407,46
K3	1,858314649	-8446,3	465,8	-307,3	307,3	165,36
K4	15,80833114	-8287,8	158,5	-52,3	52,3	3,31
K5	54,84389969	-8181,6	106,2	26,9	26,9	0,49
K6	16,42142909	-8048,6	133,1	-133,1	133,1	8,10

$L(K)$ је просечна вредност логаритма вероватноће K , $L'(K) = L(K)_n - L(K)_{n-1}$, $L''(K) = L'(K)_n - L'(K)_{n-1}$; $\Delta K = [L''(K)]/Sd$

Применом Евановог модела за одређивање броја кластера у структури популације анализираних инбред линија издвојене су, такође, две групе. Број група једнак је оном броју очекиваних кластера K за који је вредности разлике другог реда ΔK највећа. Највећа вредност ΔK добијена је код поделе на две групе K и графички је представљена пиком (граф. 6.)



Графикон 6. Логаритам вероватноће за очекивани број кластера K (лево) и вредности разлике другог реда ΔK за очекивани број кластера K према Евану (десно)

Ови резултати одговарају подели инбред линија на *BSSS* хетеротичну групу и остале (*non-BSSS*) групе и представљена је првим хистограмом на графикону 5. са моделом који претпоставља постојање две групе ($K=2$), графички приказане зеленим и црвеним стубићима. С обзиром на то да су резултати Евановог метода и метода највеће вероватноће указали на диференцијацију на две групе, у програму *STRUCTURE* изабрана је Q матрица за два кластера која се састојала од процењених коефицијената припадности сваке инбред линије за сваки кластер. Инбред линије кукуруза са коефицијентом припадности већим или једнаким вредности 0,75 су прикључене датом кластеру, док су линије код којих је вероватноћа припадности кластеру мања од 0,75 сврстане у мешовиту групу. Тако је првом кластеру придружено 51, другом 37, а мешовитом 8 инбред линија (таб. 5, 6 и 7).

Највећи број линија првог кластера припадају *Lancaster* хетеротичној групи (39 линија са педигреима у којима је значајан део гермплазме линија *C103*, *Mo17* и *Oh43*), пет *Iodent* линија и шест линија са независним педигреима, егзотичног или европског порекла које не припадају наведеним хетеротичним групама. У други кластер стврстано је 37 *BSSS* инбред линија. Трећи мешовити кластер састојао се од четири *BSSS*, две *Lancaster*, једне *Iodent* и једне инбред линије независне хетеротичне групе.

Табела 5. Инбред линије кукуруза сврстане у групу 1 на основу вероватноће припадности овој групи $Q1$

Линија	Хетеротична група	У типу	Q1
G1	Lancaster	Mo17	0,9975
G2	Lancaster	Mo17	0,9598
G5	Lancaster	Mo17	0,8689
G6	Lancaster	Mo17	0,9963
G7	Lancaster	Mo17	0,9973
G8	Lancaster	Mo17	0,9952
G9	Lancaster	Mo17	0,9956
G10	Lancaster	Mo17	0,9796
G12	Lancaster	Mo17	0,7689
G13	Lancaster	Mo17	0,8884
G14	Lancaster	Mo17	0,9843
G15	Lancaster	Mo17	0,8835
G33	Lancaster	Mo17	0,9974
G34	Lancaster	Mo17, Oh43	0,9935
G35	Lancaster	Mo17	0,9965
G40	Lancaster	Mo17, C103	0,9971
G41	Lancaster	Mo17, C103	0,9961
G43	Iodent	Iodent	0,9299

G44	Lancaster	Mo17	0,9977
G45	Lancaster	Mo17	0,9962
G47	Lancaster	Mo17	0,9972
G48	Lancaster	Mo17	0,9962
G49	Lancaster	Mo17	0,8379
G52	Lancaster	Mo17, Iodent	0,8366
G56	Независна	Егзотична гермплазма	0,9799
G57	Независна	Егзотична гермплазма	0,7718
G58	Lancaster	Егзотична гермплазма	0,9606
G59	Независна	Егзотична гермплазма	0,9265
G60	Lancaster	Oh43	0,9287
G64	Lancaster	Iowa Corn Borer Synthetic	0,8244
G67	Lancaster	C103	0,7766
G68	Независна	F7	0,9150
G69	Iodent -BSSS	Непознато	0,7557
G70	Независна	F2	0,7906
G71	Lancaster	C103	0,996
G72	Lancaster	Mo17	0,9963
G73	Lancaster	Mo17	0,9946
G74	Iodent	Iodent	0,8687
G75	Независна	Непознато	0,9958
G76	Lancaster - Независна	Непознато	0,7900
G77	Lancaster	Mo17	0,9964
G78	Lancaster	Mo17	0,9974
G79	Lancaster	Mo17	0,9959
G80	Lancaster	Mo17	0,9907
G81	Lancaster	Mo17	0,9928
G84	Lancaster	Непознато	0,9936
G87	Lancaster	Mo17	0,9966
G92	Lancaster	Mo17	0,9966
G93	Iodent	Iodent	0,9427
G94	Iodent - Lancaster	Iodent - Oh43	0,9885
G96	Iodent	Iodent	0,9664

Табела 6. Инбред линије кукуруза сврстане у групу 2 на основу вероватноће припадности другој групи Q2

Линија	Хетеротична група	У типу	Q2
G3	BSSS	B73	0,9938
G16	BSSS	B73	0,9974
G17	BSSS	B73	0,9953
G18	BSSS	B73	0,9949
G19	BSSS	B73	0,9955
G20	BSSS	B73	0,9734
G21	BSSS	B73	0,9975
G22	BSSS	B73	0,9973
G23	BSSS	B73	0,9953

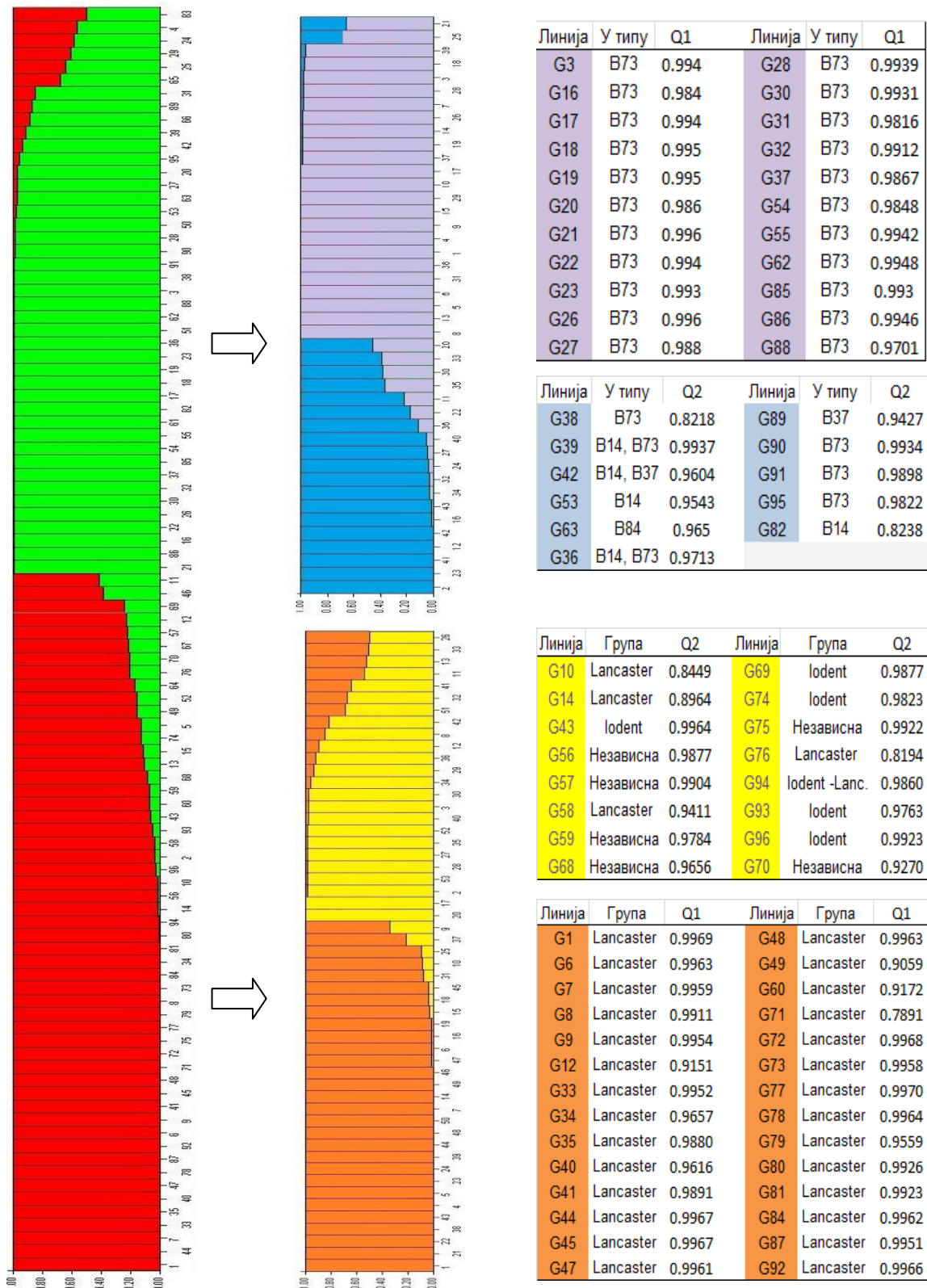
G26	BSSS	B73	0,9971
G27	BSSS	B73	0,9772
G28	BSSS	B73	0,9910
G30	BSSS	B73	0,9972
G31	BSSS	B73	0,8531
G32	BSSS	B73	0,9968
G36	BSSS	B14, B73	0,9951
G37	BSSS	B73	0,9968
G38	BSSS	B73	0,9938
G39	BSSS	B14, B73	0,9207
G42	BSSS	B14, B37	0,9389
G50	BSSS	BSSS Synthetic	0,9890
G51	BSSS	BSSS Synthetic	0,9948
G53	BSSS	B14	0,9838
G54	BSSS	B73	0,9961
G55	BSSS	B73	0,9961
G61	BSSS	BSSS Synthetic	0,9959
G62	BSSS	B73	0,9953
G63	BSSS	B84	0,9781
G66	BSSS	BSSS Synthetic	0,8940
G82	BSSS	B14	0,9959
G85	BSSS	B73	0,9974
G86	BSSS	B73	0,9976
G88	BSSS	B73	0,9954
G89	BSSS	B37	0,8743
G90	BSSS	B73	0,9919
G91	BSSS	B73	0,9928
G95	BSSS	B73	0,9641

Табела 7. Инбред линије кукуруза сврстане у мешовиту групу на основу вероватноће припадности генотипова групама 1 и 2 (Q_1 , Q_2)

Линија	Хетеротична група	У типу	Q1	Q2
G4	Lancaster	Mo17	0,4338	0,5662
G11	Lancaster	Mo17	0,5843	0,4157
G24	BSSS	B73	0,4127	0,5873
G25	BSSS	B73	0,3548	0,6452
G29	BSSS	B73	0,3885	0,6115
G46	Iodent	PH207	0,3899	0,6101
G65	BSSS	BSSS Synthetic	0,3211	0,6789
G83	Независна	ND250	0,4895	0,5105

С обзиром на то да је Еванов модел дао највиши ниво хијерархијске структуре у датом сету поделивши популацију кукуруза на две групе, да би се утврдило како се генотипови групишу у оквиру сваке од њих, анализом обе групе понаособ у програму

STRUCTURE утврђено је даље структурирање. На основу дистрибуција фреквенција алела, прва група подељена је на две подгрупе у којима су из *Lancaster* хетеротичне групе (28 инбред линија) извојене независне и *Iodent* линије (16 инбред линија). Седам инбред линија није уврштено ни у једну групу, јер је имало вредности вероватноће припадности оба кластера мање од 0,75. У другој групи, линије су се груписале у *B73* тип (22 инбред линија) и остале (11 инбред линија), док четири инбред линије нису сврстане ни у једну подгрупу (граф. 7).



Графикон 7. Хистограм процењених коефицијената припадности популацијама кукуруза. Зеленом је означена BSSS популација, која је подељена на групу са линијама насталим из B73 (љубичаста) и групу линија које воде порекло од B14, B37, B73 и B84 (плава). Друга популација (црвена) подељена је на Lancaster линије (наранџаста) и групу линија Lancaster, Iodent и линије независне хетеротичне групе (жута).

Параметријски модел дистрибуције фреквенција примењен у програму *STRUCTURE* придружио је 96 инбред линија кукуруза унапред задатом броју кластера (група) према карактеристичном сету фреквенција алела за све локусе, док су метод највеће вероватноће и Еванов метод утврдили постојање две групе. Подела инбред линија на две групе у сагласности је са поделом инбред линија на *BSSS* хетеротичну групу и остале (*non-BSSS*) групе (Hallauer and Miranda 1988, Rasmussen and Hallauer 2006).

Литературни подаци указују на непостојање јединственог начина утврђивања броја кластера и препоручују примену метода највеће вероватноће и Евановог модела, као и да број изабраних кластера буде објашњив са биолошког становишта (Pritchard et al. 2000, Pritchard et al. 2007, Coulon et al. 2008). Најчешћу поделу на две групе која се добија применом Евановог метода потврђује истраживање Vigouroux et al. (2008) који су применом овог метода груписали 310 популација кукуруза у кластер који је обухватио популације кукуруза са Анда и други кластер који се састојао од популација кукуруза које нису пореклом са Анда. Ову појаву Vigouroux et al. (2008) објашњавају малим вредностима вероватноће да вредност K буде 1, односно да је мала вероватноћа да не постоји структурирање у испитиваним генотиповима, услед чега је разлика вероватноће (ΔK) да постоје два кластера и вероватноће да постоји један кластер, већа од разлике вероватноћа да постоје три кластера и два кластера, разлика вероватноћа четири кластера и три кластера, итд. Примењујући Еванов модел, Semagn et al. (2012) су поделили 450 инбред линија кукуруза у два кластера, али су након поређења педигреа утврдили да подела на три кластера више одговара расподели инбред линија према пореклу. Yang et al. (2010) су приметили да подела популације 155 испитиваних инбред линија у два кластера није у потпуности у сагласности са подацима о педигреима, па су поделу инбред линија унутар сваког кластера извршили укључујући њихове педигрее. Suteu et al. (2014) су анализом популације од 90 инбред линија кукуруза са 80 микросателитских маркера утврдили поделу инбред линија у два велика кластера, које су анализирајући сваки кластер посебно у програму *STRUCTURE* даље поделили у два, односно пет подкластера.

Програм *STRUCTURE* није издвојио у посебне кластере *Iodent* линије, као ни инбред линија које воде порекло из европских тврдунаца или из Јужне Америке. На овакву поделу вероватно је утицао несразмеран удео *Iodent* линија и линија независног порекла у укупном броју инбред линија и њихова слаба диференцијација,

те су оне груписане у један од два највећа кластера, *Lancaster* кластер. Узимајући другу највећу вредност разлике другог реда ΔK и другу највећу просечну вредност логаритма вероватноће као показатеље броја група, 96 инбред линија је груписано у три кластера: *Lancaster*, *BSSS* кластер и трећи који се састојао од: *Iodent* линија, инбред линија пореклом из европских тврдунаца и из Јужне Америке, заједно. Избором четири и пет очекивана кластера, расподела генотипова ни у једном случају није била у сагласности са њиховим педигреима и хетеротичним групама.

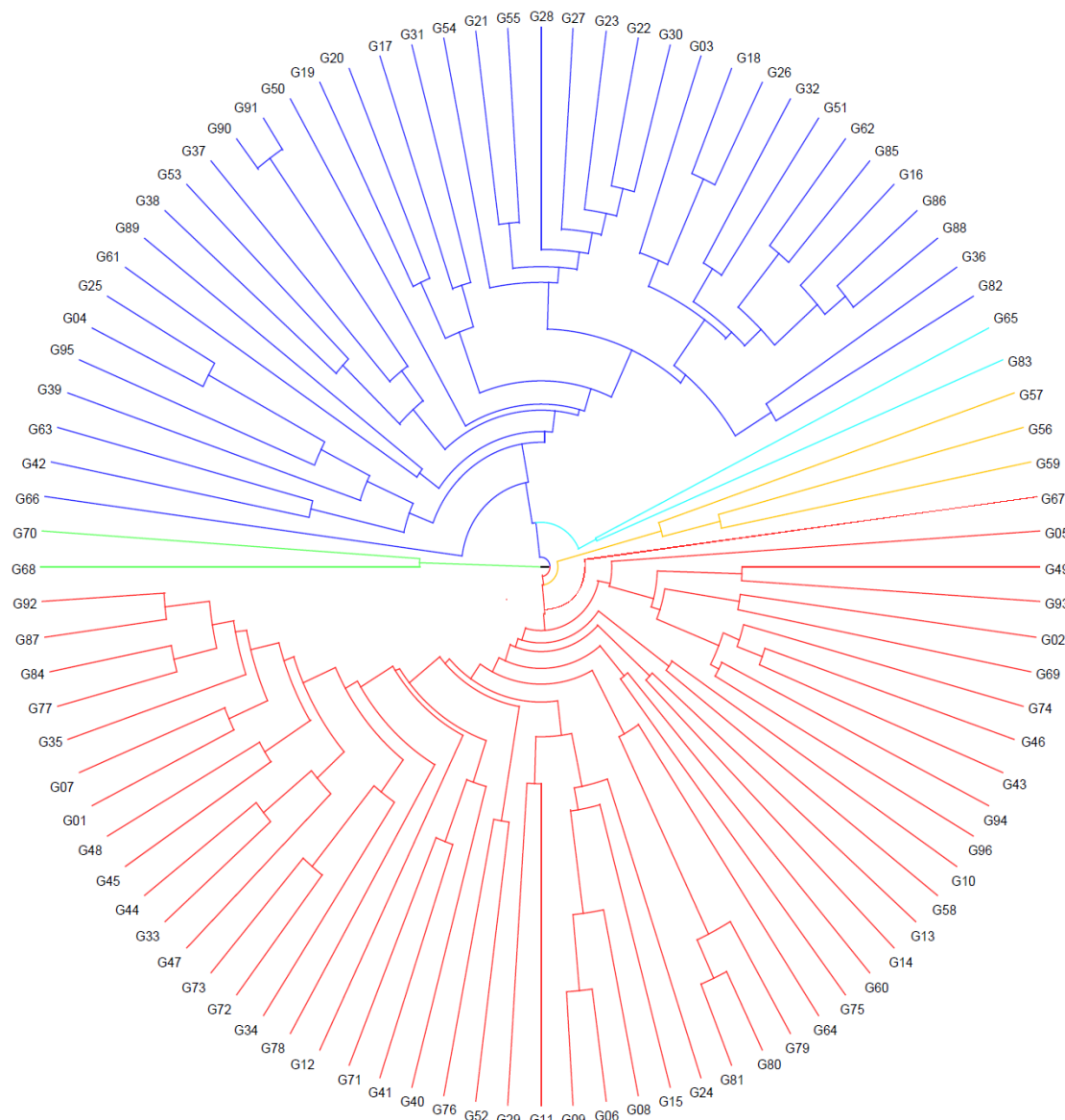
Честа подела генотипова кукуруза на два кластера (Vigouroux et al. 2008) се може објаснити постојањем хијерархијске структуре. Еванов метод проналази највиши ниво структуре у датом сету података, што је у истраживању 96 инбред линија кукуруза обухваћених овом дисертацијом потврђено анализом оба кластера понаособ и утврђивањем даљег структурирања унутар сваког кластера. Сваки кластер *STRUCTURE* је поделио на две групе, издвојивши у великој мери линије у типу *B73* од осталих у оквиру *BSSS* кластера и инбред линије *Lancaster* хетеротичне групе од линија независне хетеротичне групе и *Iodent* линија. Мањи број линија у типу *B73* није сврстан у *B73* подкластер *BSSS*, као што је и део *Lancaster* инбред линија остао изван *Lancaster* подкластера *non-BSSS* кластера. Ово може бити последица утицаја других генотипова који су учествовали у стварању ових инбред линија, као што су предачке линије или популације из којих су инбред линије настале. Liu et al. (2003) разлике у генетичкој конституцији линија сличног порекла објашњавају селекцијом и генетичким дрифтом у процесу инбридинга приликом стварања инбред линија доводећи до одступања између њихових педигреа и генетичких дистанци. Свакако да би доступност потпунијим подацима о педигреима коришћених инбред линија омогућило боље сагледавање њихових међусобних односа и оцену подудараности њихових педигреа са методама кластер анализе.

6.3 Анализа структуре популације кукуруза заснована на генетичким растојањима

Кластер анализом, применом *UPGMA* метода, сви генотипови кукуруза су сврстани у пет група. Генетичка одстојања између инбред линија визуелно су представљена дендрограмом са дихотомим гранањем - из сваке тачке рачвања раздвајају се увек два кластера, све до појединачних генотипова (граф. 8).

Две највеће групе чине линије BSSS и *Lancaster* хетеротичне групе. Линије G68 и G70, које у својим педигреима имају француске линије F7 и F2, односно потичу из популације европских тврдунаца и чине независну хетеротичну групу, груписане су у посебан кластер. Три линије G56, G57 и G59, егзотичне гермплазме, преклом у Јужне Америке, посебне хетеротичне групе, чине четврти кластер. У пети кластер издвојене су две инбред линије, G65 и G83. Прва линија је настала из синтетичке популације BSSS, док је друга независног генетичког материјала. На основу генетичких удаљености, UPGMA метод је ове две линије груписао најближе линијама BSSS кластера. Линија G66 која, као и линија G65, потиче из синтетичке популације BSSS, груписана је на самом крају BSSS кластера, генетички је најудаљенија од осталих BSSS линија, а најближа линијама петог кластера.

Све *Iodent* линије (G43, G46, G69, G74, G93, G94 и G96) налазе се у једном кластеру у оквиру већег *Lancaster* кластера. Три инбред линије, G75, G76 и G84, чији педигреи нису познати, груписали су се у *Lancaster* кластер. Линија генетички најближа линији G75, непознатог порекла, је линија G60 у типу *Ob43* и налази се између *Mo17* и *Iodent* кластера. Линија G76 је генетички најсроднија G52 линији, која у свом педигреу има *Mo17* и *Iodent* гермплазму, и сврстана је у *Mo17* кластер. Линија G84 се груписала око линија G77, G87 и G82 које су и типу линије *Mo17*. Линије *Lancaster* хетеротичне групе које у својим педигреима имају гермплазму линије *C103*, груписане су једна до друге у оквиру *Mo17* кластера, осим линије G67 која је генетички најудаљенија од осталих. G34, која потиче из *Mo17* и *Ob43*, сврстана је у кластер са линијама у типу *Mo17*, док су линије G64, настала из популације *Iowa Corn Borer Synthetic*, и линије G60, која је у типу *Ob43*, релативно блиске. Међу линијама BSSS хетеротичне групе, G39 и G42, које су настале из линија *B14* и *B73*, груписане су заједно са линијом G63, *B84* основе, док је линија G36, која, такође, садржи генетички материјал линија *B14* и *B73*, генетички ближа G82, *B14* основе. Линије настале из BSSS синтетичке популације, G50, G51, G61, G65 и G66, нису се груписале заједно. Две BSSS линије, G24 и G29, налазе се у *Lancaster* кластеру, једна *Lancaster*, G4, и једна *Iodent* линија, G46, налазе се у BSSS кластеру.



Графикон 8. Дендрограм инбред линија кукуруза добијен кластер анализом применом непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином

Прва издвојена група из испитиваних генотипова били су европски тврдунци. van Inghelandt et al. (2010) су, такође, издвојили генетички најудаљеније северне тврдунце од *BSSS*, *Lancaster* и *Iodent* групе анализом структуре популације 1537 инбред линија са 359 *SSR* и 8244 *SNP* маркера на основу модификованих Роџерових растојања. Ови резултати су очекивани с обзиром на историју оплемењивања и уношење кукуруза различитог порекла у различитим временским периодима у Европу. Европски тврдунци су настали укрштањем тврдунаца са Кариба и тврдунаца из североисточног дела Америке донетих у Европу у првој половини 16. века, где су развили способност адаптације на нове специфичне услове спољашње средине

(Rebourg et al. 2003, Dubreuil et al. 2006). Четири стотине година њихове адаптације и еволуције која је трајала до увођења америчких зубана кукурузног појаса САД крајем XIX и почетком XX века (Leng et al. 1962, Trifunović 1978) утицала је на велику генетичку удаљеност између овде две групе. С тога је издвајање инбред линија које воде порекло од европских тврдунаца од осталих инбред линија *UPGMA* методом у складу са историјом увођења кукуруза у Европу, његовом адаптацијом на поједине еколошке услове и стварањем генетичких специфичности у односу на касније интродуковане зубане.

Након издвајања европских тврдунаца, преостали генотипови су се поделили на две групе. Прву групу чине линије *Lancaster* и *Iodent* хетеротичне групе и инбред линије које воде порекло из Аргентине. Другу групу чине *BSSS* линије и две линије, *BSSS* основе, али генетички удаљеније од осталих.

У оквиру *Lancaster* групе прво се извојила група *Iodent* линија, а затим линије у типу *Oh43* и линије у типу *Mo17*. Добијени резултати који указују да су *Iodent* линије ближе *Lancaster* линијама, разликују се од резултата истраживања Troyer (1999) који наводи да групе кукуруза *Iodent* и *Stiff Stalk Synthetic (BSSS)* потичу из заједничке популације *Reid Yellow Dent*. van Inghelandt et al. (2010) су установили да је просечно растојање између *Iodent* и *BSSS* групе мање него између осталих група. Ову генетичку сличност аутори објашњавају пореклом анализираних *Iodent* линија напомињући да су испитиване *Iodent* линије добијене из укрштања *Stiff Stalk* и изворних *Iodent* генотипова. Mikel and Dudley (2006) наводе да се линије из подгрупе *Stiff Stalk* x *Iodent* користе за укрштања са *Oh43* линијама за добијања хибрида, као и да су *Iodent* и *BSSS* групе довољно генетички удаљене да дају хибридна потомства. С обзиром на то да су разлике између хетеротичних група у много већој мери исход оплемењивања, односно селекције усмерене ка стварању линија које ће међусобним укрштањем дати хетерозис, него диференцијације генетички различитих оснивачких популација (van Heerwaarden et al. 2012), вероватно је селекција и стварање *Iodent* линија у Институт за ратарство и повртарство било усмерено ка стварању линија које ће дати хибридно потомство пре са *BSSS* линијама, него са линијама *Lancaster* хетеротичне групе, чинећи *Iodent* генетички удаљенијим од *BSSS* линија.

Груписање линија *Oh43*, *Mo17* и *C103*, родитељ *Mo17*, у оквиру *Lancaster* кластера у складу је са њиховим педигреима. Све три линије воде порекло из *Lancaster Surecrop* популације кукуруза (Gerdes and Tracy 1993, Lee and Tracy 2009).

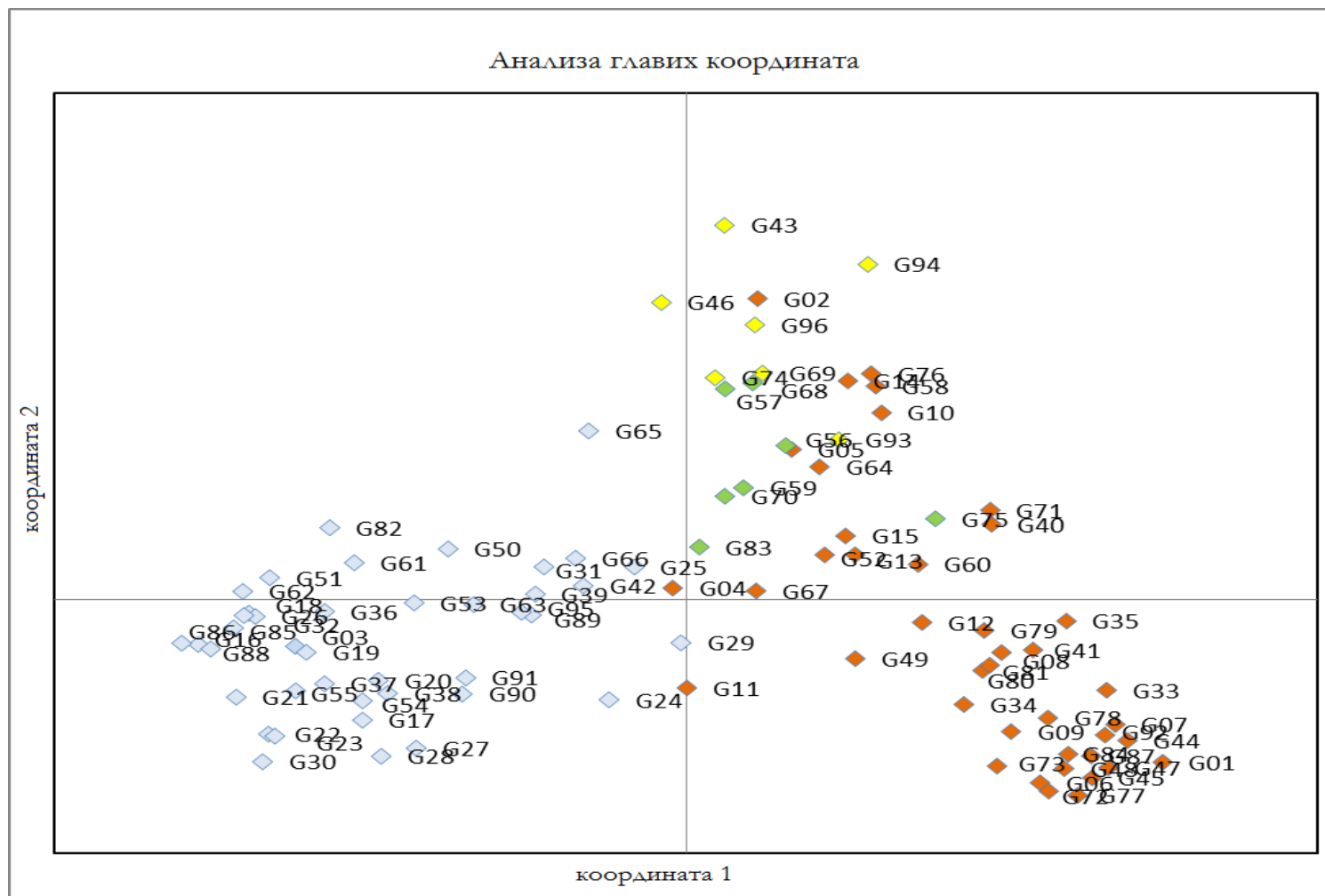
Унутар *BSSS* кластера није примећено груписање генотипова према линијама од којих воде порекло. Генетичка сличност између анализираних *BSSS* линија, на основу генетичких дистанци, била је већа у односу на линије *Lancaster* групе указујући на ужу генетичку основу *BSSS* линија које се користе у оплемењивачком програму или на укрштања и проширивање генетичког диверзитета *Lancaster* групе са гермиплазмом другог порекла.

Две *BSSS* линије сврстане су у *Lancaster* кластер, док су се једна *Lancaster* и једна *Iodent* линија нашле у *BSSS* кластеру. Неподударност између молекуларних података и педигреа инбред линија примећена је и у другим истраживањима (Gethi et al. 2002, Li et al. 2002, Labate et al. 2003). Применивши *UPGMA* метод за кластер анализу инбред линија на основу молекуларних података, Varata and Carena (2006) су утврдили да се неколико *BSSS* линија груписало у *Lancaster* кластер. Ово неслагање они објашњавају појавом алела идентичних по облику (енгл. *identical by state*), али који нису идентични по пореклу (енгл. *identical by descent*), односно не воде порекло од заједничког претка. Како молекуларни маркери не могу да разликују алеле који су идентични по пореклу од алела који потичу од заједничког претка, линије које носе алеле који имају исте облике, али различито порекло могу бити погрешно груписане заједно. Истраживања Warburton et al. (2002) и Yu et al. (2001) показала су да инбред линије које су створене из исте популације не морају увек да буду генетички блиске и да се групишу заједно. Услед генетичког дрифта, мутација и селекције у оквиру малих популација, нарочито оних насталих укрштањем више родитеља, често у оплемењивачким програмима кукуруза може доћи до одступања између података о педигреима и молекуларних података (Romero-Severson et al. 2001). Такође, грешке приликом екстракције ДНК, ланчане реакције полимеразе, читавања резултата или обележавања узорака могу довести до неочекиваних резултата. С друге стране, молекуларни маркери могу разјаснити подигрее и повећати тачност и прецизност приликом процена односа између линија и структуре популације, нарочито у случајевима када подаци о педигреима нису увек доступни, јасни и потпуни (Bernardo 1994).

6.4 Анализа структуре популације кукуруза заснована на анализи главних координата

Анализа главних координата је примењена да просторно прикаже релативна генетичка одстојања између 96 инбред линија на основу молекуларних података и утврди да ли постоји сагласност груписања генотипова овим методом са параметријским моделом, кластер анализом заснованом на генетичким растојањима и хетеротичним групама и педигреима (граф. 9). Прва координата објаснила је 17,38%, друга 5,47%, а трећа 4,48% укупне варијабилности. Прве три координате заједно су објасниле 27,32% укупне генетичке варијабилности. Прва координата раздвојила је инбред линије које припадају *Iodent* и независној хетеротичној групи од *Lancaster* и *BSSS* хетеротичне групе, док је друга координата раздвојила последње две групе: *Lancaster* и *BSSS* хетеротичну групу. *BSSS* хетеротична група хомогенија је од *Lancaster* групе, чији су генотипови у већој мери расути на дијаграму анализе главних координата. *Iodent* инбред линије и линије независне хетеротичне групе груписале су се ближе *Lancaster*, него *BSSS* генотиповима. Прва координата раздвојила је инбред линије *BSSS* линије на оне које су у типу *B73*, у доњу половину дијаграма, и остале, у горњу половину. Изузетак су инбред линије *G31* и *G25*, *B73* основе, линије *G53*, *G63*, које су на самој апсциси, и *G89* и *G36*, које су веома близу прве координате. На дијаграму добијеном анализом главних координата није утврђено груписање *Lancaster* линија према линијама из којих су изведене.

Распоред инбред линија кукуруза на дијаграму добијеном анализом главних координата углавном је у сагласности са кладограмом инбред линија добијених кластер анализом применом непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином, параметријским моделом примењеним у програму *STRUCTURE* и познатим подацима о припадности хетеротичним групама и педигреима за већину генотипова. Неподударности су примећене код неколико генотипова. Линија *G4 Lancaster* хетеротичне групе, уврштена је у *BSSS* кластер *UPGMA* методом. Анализа главних координата просторно је представила ову инбред линију близу *BSSS* генотипова, док ју је програм *STRUCTURE* са 57% вероватноће уврстио у *BSSS* групу. Линије *G24* и *G29*, *BSSS* хетеротичне групе, распоређене су кластер анализом са *Lancaster* инбред линијама.



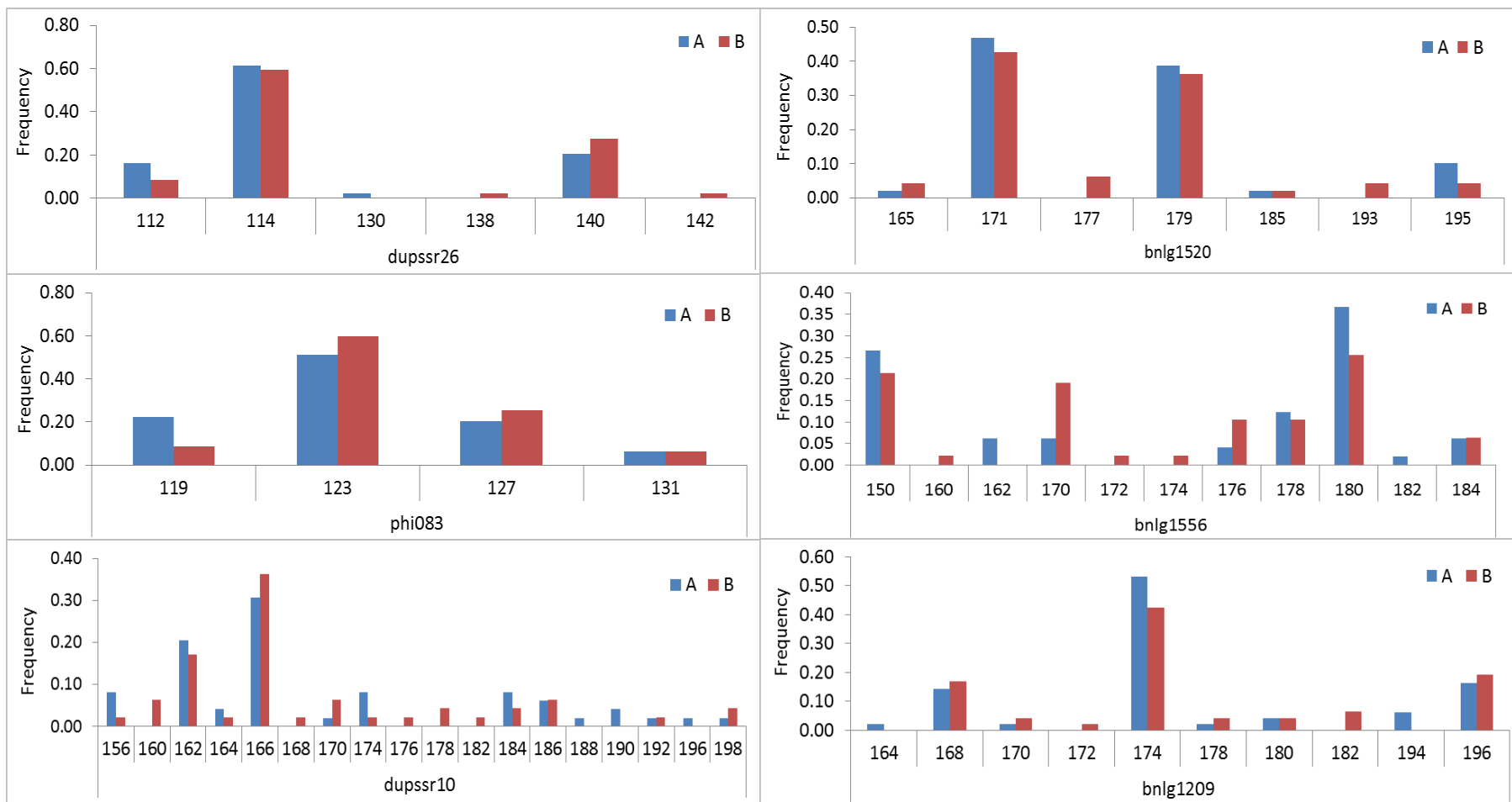
Графикон 9. Дводимензионални приказ груписања 96 инбред линија кукуруза применом анализе главних координата са 36 микросателитских маркера. Плава- *BSSS* хетеротична група; црвена- *Lancaster* хетеротична група; зелена- независна хетеротична група и жута: *Iodent* хетеротична група

Анализом главних координата ове линије су груписане са *BSSS* линијама, недалеко од *Lancaster* групе, док их је програм *STRUCTURE* сврстао у мешовиту групу са вероватноћама припадности *BSSS* групи 59% и 61%, редом. *Iodent* линија *G46*, придружена је *BSSS* групи применом *UPGMA* метода, мешовитој групи применом *STRUCTURE* са 61% вероватноће припадности *BSSS*, док је анализом главних координата груписана са *Iodent* линијама, али за разлику од осталих налази се са леве стране друге координате, ближе *BSSS* линијама. Линија *G11* која је у програму *STRUCTURE* уврштена у мешовиту групу, на графикону анализе главних координата приказана је на самој граници између *BSSS* и *Lancaster* групе, док је на основу педигреа и *UPGMA* метода груписана међу *Lancaster* линије.

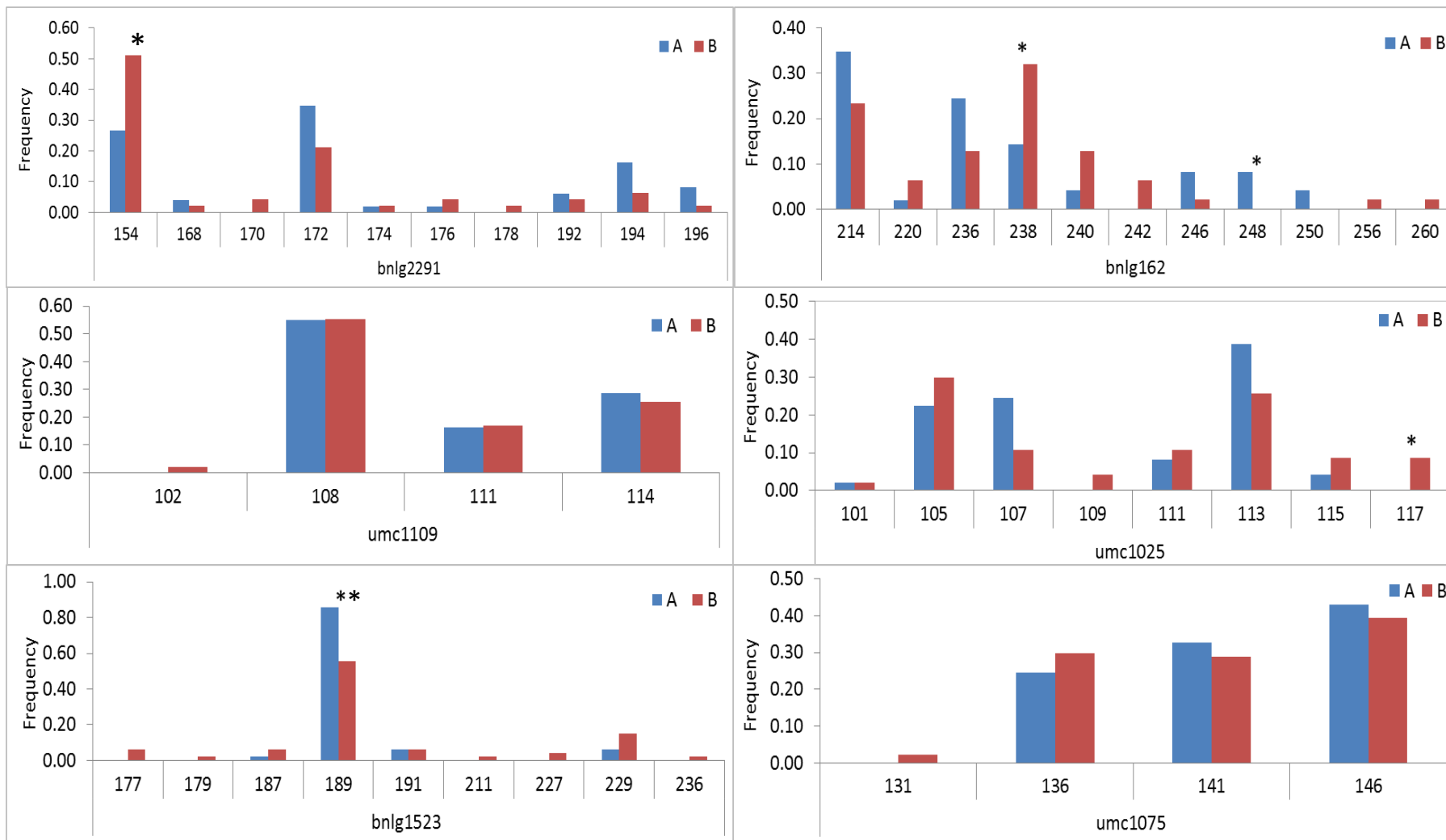
Резултати анализе главних координата су у великој мери били у сагласности са резултатима добијеним у програму *STRUCTURE*, *UPGMA* методом и хетеротичним групама. Сви методи јасно су издвојили *BSSS* и *non-BSSS* групе. *Iodent* линије груписане су у засебан кластер у оквиру *Lancaster* групе и анализом главних координата и *UPGMA* методом, док су инбред линије које су припале мешовитој групи применом *STRUCTURE*, распоређене близу прве координате анализом главних координата указујући на њихово мешовито порекло. Ипак, анализа главних координата није издвојила европске тврдунице у посебну групу, као ни *STRUCTURE*, за разлику од *UPGMA* метода, што упућује на закључак да комбинација више метода кластер анализа може дати поузданију слику структуре популација инбред линија, односно њихових међусобних односа. Сагласност груписања линија у програму *STRUCTURE*, анализом главних координата и према хетеротичним групама потврдили су van Inghelandt et al. (2010) и Maurer et al. (2006) закључујући да хетеротичне групе могу са великом поузданошћу указати на структуру испитиване популације и служити као основа за истраживања диверзитета кукуруза. Ипак, придруживања генотипова непознатог или мешовитог порекла хетеротичним групама, на основу молекуларних података, требало би потврдити пољским огледима, утврђивањем комбинационих способности са тестерима различитих хетеротичних група (Melchinger 1999, Barata and Carena 2006).

6.5 Поређење фреквенција алела две групе инбред линија кукуруза

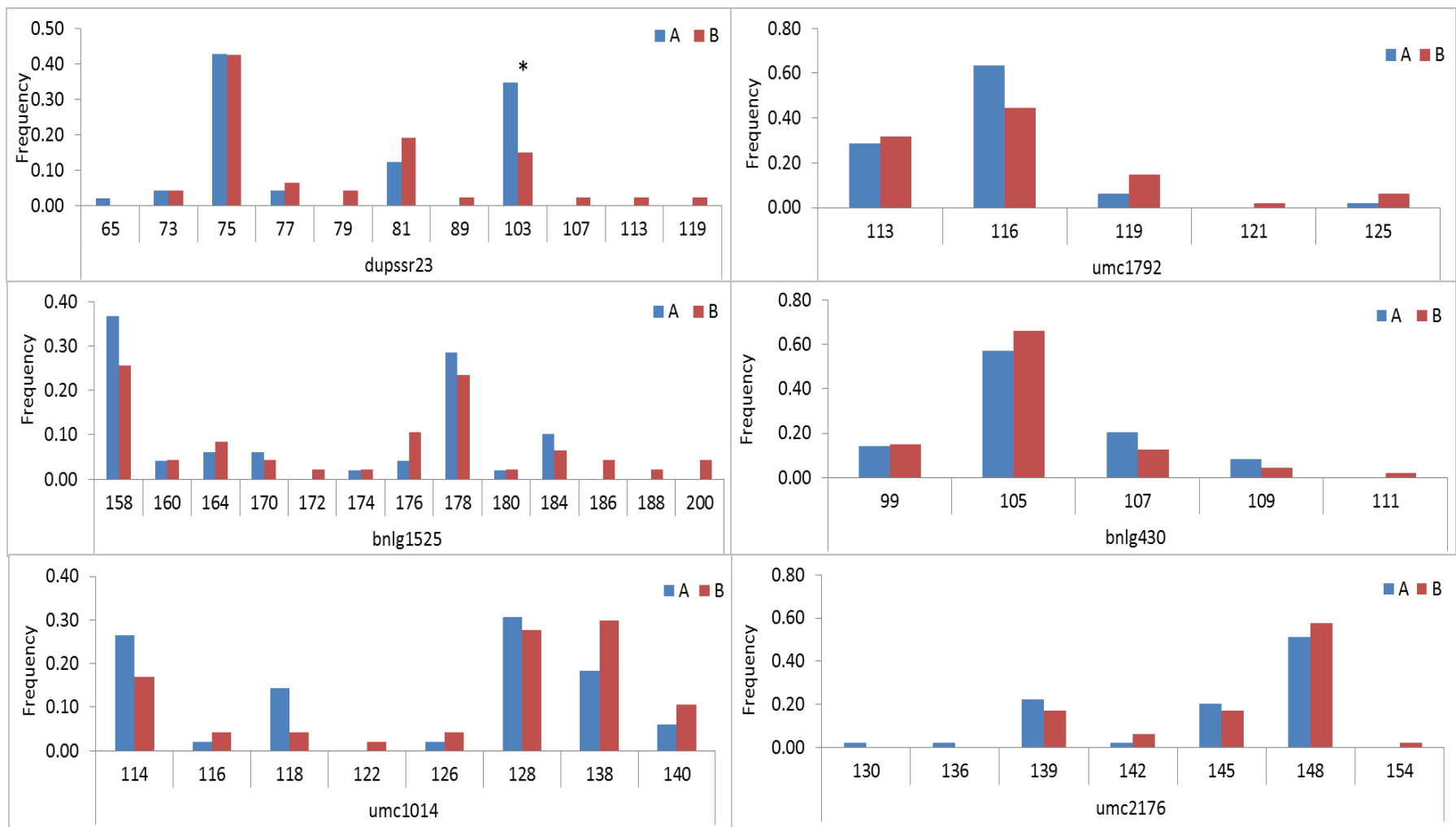
Тестирањем разлика фреквенција утврђених алела инбред линија (χ -test, *XLSTAT software*) које припадају двома највећим хетеротичним групама, а уједно и групама издвојених кластер анализом, утврђено је 17 алела 12 маркера чије се фреквенције статистички значајно разликују на нивоу значајности од 5%: *bnlg2291* (алел 154 bp), *bnlg162* (алели 238 bp и 248 bp), *umc1025* (алел 117 bp), *bnlg1523* (алел 189 bp), *umc1035* (алел 140 bp), *dupssr23* (алел 103 bp), *phi093* (алели 280 bp, 282 bp и 286 bp), *phi027* (алели 146 bp и 156 bp), *bnlg238* (алел 149 bp), *umc1221* (алел 77 bp), *umc1083* (алел 104 bp) и *umc1022* (алели 91 bp и 95 bp) (граф. 10-15). Ових 17 алела чине 5,7% укупног броја утврђених алела и припадају трећини коришћених маркера. Статистички значајна разлика на нивоу значајности од 1% израчуната је за фреквенције алела локуса 189 bp - *bnlg1523* и 77 bp - *umc1221* линија које припадају *BSSS* и *Lancaster* популацијама. Локуси *dupssr23* (алел 103 bp), *bnlg162* (алел 248 bp), *phi093* (алел 282 bp), *bnlg238* (алел 149 bp) и *umc1221* (алел 77 bp) имали су најмање двоструко већу фреквенцију алела код *Lancaster* популације у односу на *BSSS*, док су локуси *bnlg1523* (алел 189 bp), *phi027* (алели 146) и *umc1083* (алел 104 bp) имали за 30%, 22% и 23% већу фреквенцију алела у *Lancaster* линијама. *BSSS* линије су у локусима *bnlg162* (алел 238 bp), *umc1025* (алел 117 bp), *umc1035* (алели 140 bp), *phi027* (алели 156 bp) и *umc1022* (алели 91 bp) имале најмање двоструко већу фреквенцију алела него *Lancaster* линије и за 25% и 20% већу фреквенцију у локусима *bnlg2291* (алел 154 bp) и *phi093* (алел 280 bp).



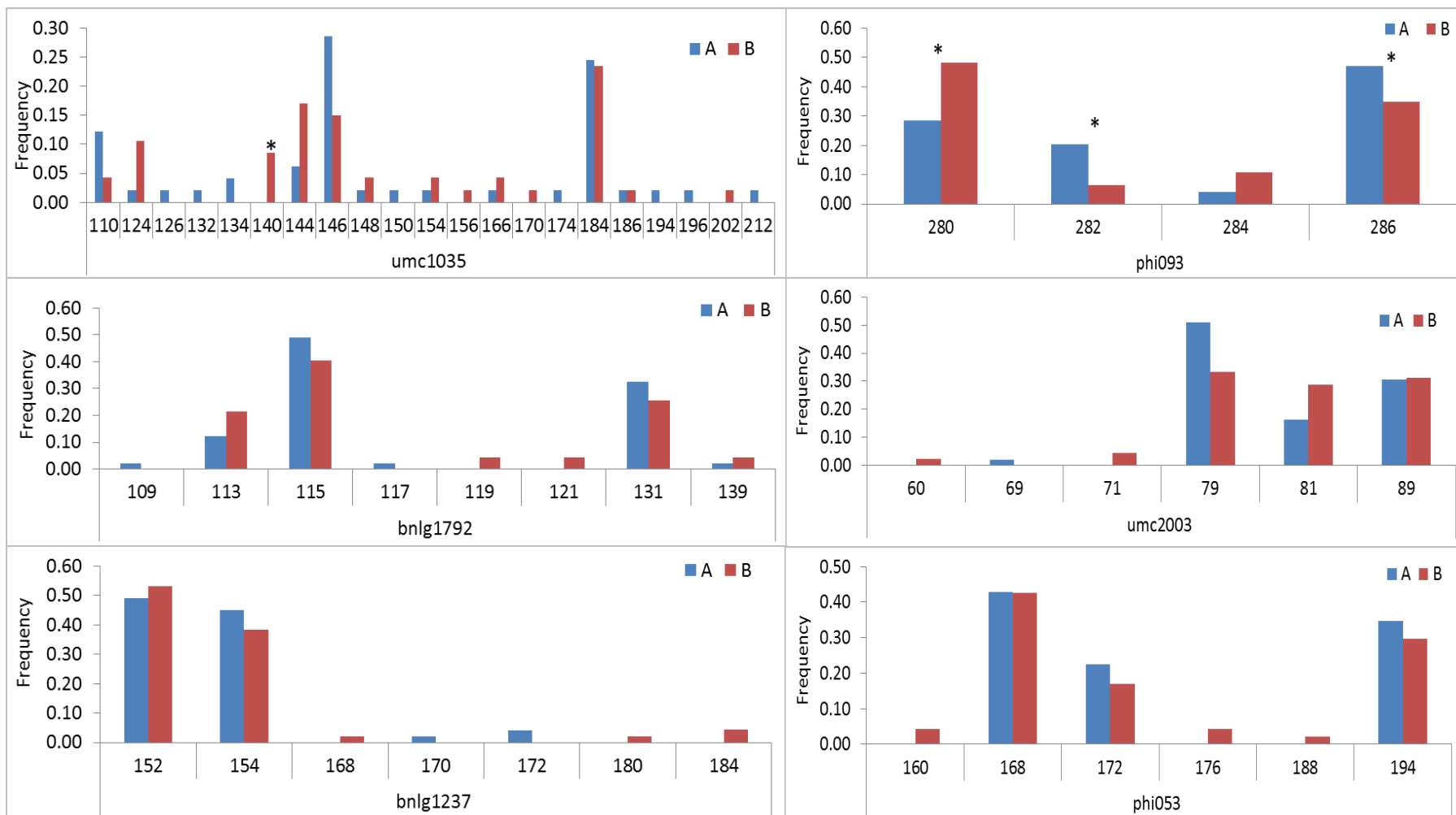
Графикон 10. Фреквенција алела инбред линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%



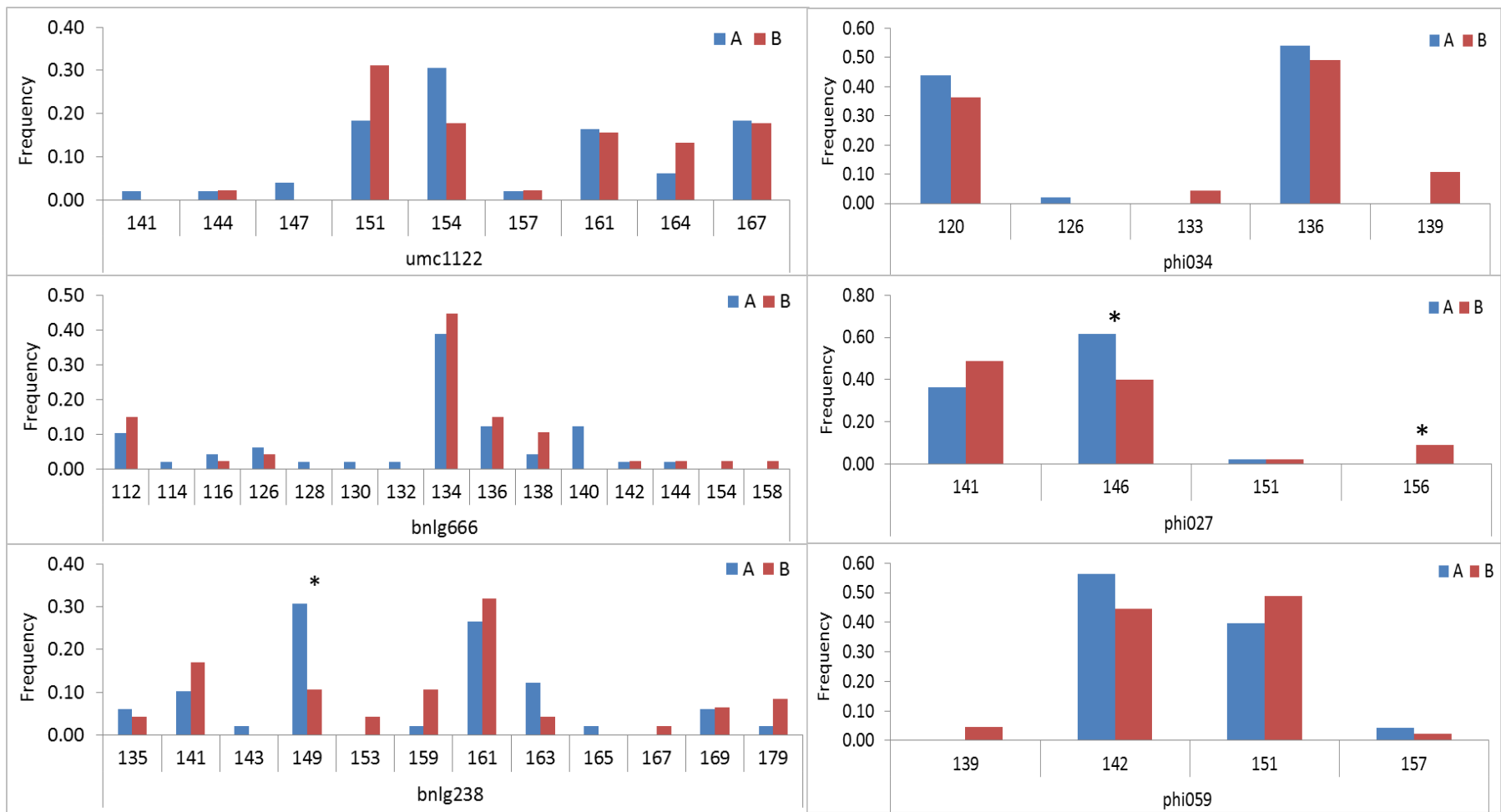
Графикон 11. Фреквенција алела инбрид линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%



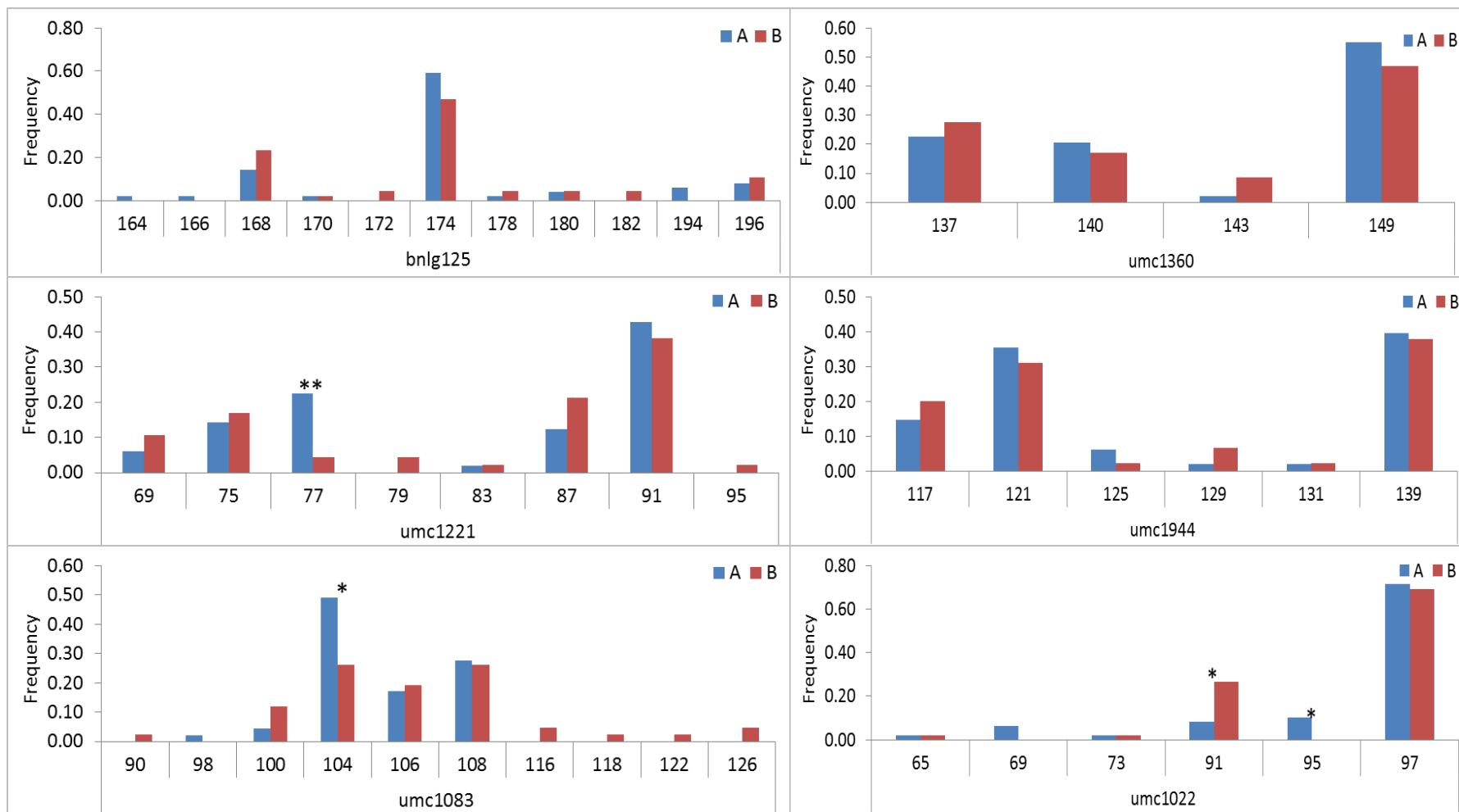
Графикон 12. Фреквенција алела инбред линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%



Графикон 13. Фреквенција алела инбред линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%



Графикон 14. Фреквенција алела инбред линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%



Графикон 15. Фреквенција алела инбред линија кукуруза *Lancaster* (A) и *BSSS* (B) хетеротичне групе, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%

Од укупно 297 алела, 38% утврђено је само код једне групе. *BSSS* група је имала двоструко више алела који су били својствени само *BSSS* групи (24%) него *Lancaster* (14%). Већина алела својствених само једној групи имали су ниске фреквенције. Само 2,5% алела карактеристичких за *Lancaster* групу и 3% алела присутних само код *BSSS* групе имали су фреквенцију изнад 5%.

Око 76% инбред линија имало је најмање један алел јединствен за ту линију, просечно 2,5 јединствених алела по линији. Тридесет седам линија које су сврстане у *Lancaster* популацију (72,5%) имало је од 1 до 6 јединствених алела, просечно 1,97 алела по линији, док је 36 линија *BSSS* групе (97,3%) имало од 1 до 11 јединствених алела, просечно 3,08 алела по линији

Популација *BSSS* имала је већи просечан број алела, број ефективних алела, Шенонов индекс, запажену и очекивану хетерозиготност указујући на већу дивергентност испитиваних инбред линије *BSSS* групе у односу на инбред линије *Lancaster* хетеротичне групе (таб. 8).

Табела 8. Просечан број алела (N_a), број ефективних алела (N_e), Шенонов индекс (I), запажена (H_o), очекивана (H_e) и непристрасна очекивана хетерозиготност (uHe), коефицијент инбридинга (F) две групе инбред линија кукуруза

Популација	N_a	N_e	I	H_o	H_e	uHe	F
Lancaster	6,278	3,252	1,315	0,001	0,652	0,659	0,999
BSSS	7,167	3,755	1,473	0,002	0,697	0,705	0,996

Резултати анализе молекуларне варијансе показали су да је унутарпопулациона варијабилност много већа од варијабилности између популација. Само 1% укупне варијансе објашњено је варијабилношћу између инбред линија које припадају двема групама, док је 99% варијансе резултат варијансе у оквиру сваке популације понаособ (таб. 9). Генетичко растојање између две популације према Неи износило је 0,59.

Табела 9. Молекуларне анализа варијансе (*AMOVA*)

Извор варијације	Степен слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	Процењена варијанса	% објашњене варијансе
Између популација	1	33,259	33,259	0,087	1%
Између јединки	94	2340,653	24,901	12,437	99%
Унутар јединки	96	2,500	0,026	0,026	0%
Укупно	191	2376,411	12,442	12,550	100%

Вредности коефицијента инбридинга (F_{is}) јединке у односу на потпопулацију (групу) 0,998 и фиксационог индекса (F_{st}) 0,07, добијени из процењених варијанси између популација, унутар индивидуа, између индивидуа и укупне варијансе, указују да је диференцијација између група мала, односно да је варијабилност између инбред линије много већа него између група које оне формирају.

Већи укупан број детектованих алела и просечан број алела по локусу, очекивана хетерозиготност, PIC вредност, већи број специфичних алела код $BSSS$ линија у односу на *Lancaster* групу указују на велики диверзитет ове $BSSS$ групе, као и њихов значај у оплемењивачким програмима. Велики диверзитет $BSSS$ хетеротичне групе, односно *Reid Yellow Dent* популације из које је $BSSS$ група настала, описан је раније (Smith et al. 1985). Lu and Bernardo (2001) су испитивајући 32 историјски најзначајније инбред линије са 83 SSR маркера утврдили да је диверзитет $BSSS$ линија (*B14*, *B37*, *B73* и *B84*) мањи него код линија које нису $BSSS$ основе (*Mo17*, *C103*, *Ob43* и *H99*).

Више од трећине утврђених алела било је карактеристично за само једну групу, $BSSS$ или *Lancaster*. Сматра се да су се у процесу селекције на принос фреквенције алела великог броја локуса две најзначајније хетеротичне групе мењале у супротном смеру, при чему се повећавала генетичка дистанца између њих (Cooper et al. 2009). Yang et al. (2010) су утврдили 30% алела само код једне од две групе линија добијених применом *STRUCTURE*, док је чак 21% алела утврђено код појединачних линија. Аутори сматрају да алели специфични за линије настају услед вештачке селекције и генетичког дрефта и могу бити извор пожељних гена и генетичке варијабилности потребне за даље оплемењивање кукуруза и анализу квантитативних особина. Сличан закључак наводе и Feng et al. (2006) сматрајући да су хетеротичне групе са јединственим комбинацијама алела веће фреквенције последица селекције. Emrich et al. (2007) су утврдили велики број тандем дупликација у геному кукуруза укључујући и неке које су присутне само у појединим инбред линијама, док су резултати другог истраживања показали да је 11% свих генских фрагмената јединствено за сваку инбред линију (Morgante et al. 2005). Buckler et al. (2006) наводе да је чак више од једне трећине гена или фрагмената гена специфично за појединачну инбред линију.

Занимљиво је истаћи да је већина анализираних алела која је била својствена само једној групи имала ниске фреквенције. Значај ретких алела са великим ефектом

у процесу селекције кукуруза истакнут је у недавном истраживању (van Haarwaarden et al. 2012).

Већа варијабилност између самих инбред линија него између група које оне формирају указује да је генетички диверзитет већи на нивоу гена, него на нивоу популације испитиваних инбред линија, као и да је генетички диверзитет већи унутар хетеротичних група, него између њих. На овакву расподелу варијансе утицао је испитивани генетички материјал, који је изабран тако да обухвати што већи број генетички дивергентних линија из различитих оплемењивачких програма. Резултати су у сагласности са истраживањем Yang et al. (2010), који су утврдили да је у оквиру мапирајућег панела од 155 фенотипских и генотипских дивергентних инбред линија само 6% укупне генетичке варијансе објашњено варијабилношћу између група.

6.6 Гаметска неравнотежа између *SSR* маркера кукуруза

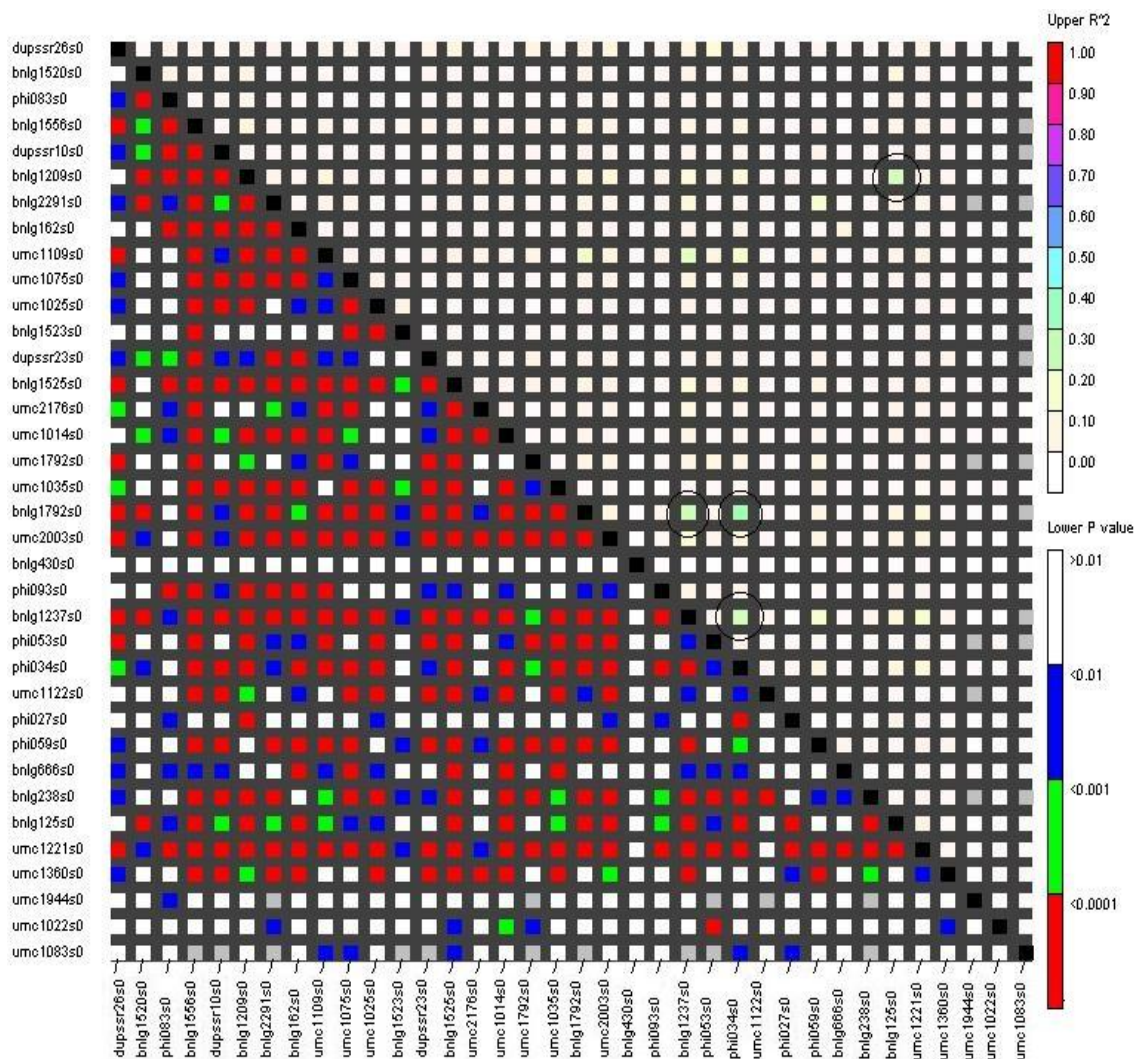
Постојање гаметске неравнотеже између парова микросателитских маркера је испитано међу свим линијама и двама групама. Статистички значајна разлика на нивоу 0,01 утврђена је између 60,3% свих парова маркера. Од укупног броја свих парова маркера на истом хромозому просечно 70,2% било је у гаметској неравнотежи (таб. 10). У оквиру *Lancaster* групе утврђено је 120 парова маркера (19%) који су били у гаметској неравнотежи, а од укупног броја свих парова маркера на истим хромозомима просечно 39,2% је било у гаметској неравнотежи. У односу на *Lancaster* групу, код *BSSS* групе је установљен мањи број (56) парова маркера који су били у гаметској неравнотежи на нивоу значајности 0,01, око 9% свих анализираних парова. Просечно 22% парова *SSR* маркера на истим хромозомима у *BSSS* групи је било у гаметској неравнотежи. Процент везаних парова маркера у гаметској неравнотежи у односу на укупан број везаних гена, варирао је међу хромозомима и групама кукуруза. У *Lancaster* групи већи проценат везаних гена је утицао на гаметску неравнотежу, него у *BSSS* групи.

Табела 10. Процент везаних микросателитских парова у гаметској неравнотежи (<0.01) у укупном узорку и групама кукуруза

Хромозом	Укупно	Lancaster	BSSS
1	83,3	66,7	16,7
2	100,0	66,7	33,3
3	75,0	75,0	50,0
4	60,0	0,0	20,0
5	83,3	33,3	16,7
6	66,7	33,3	33,3
7	33,3	33,3	33,3
8	66,7	66,7	16,7
9	33,3	16,7	0,0
10	100,0	0,0	0,0
Просек	70,2	39,2	22,0

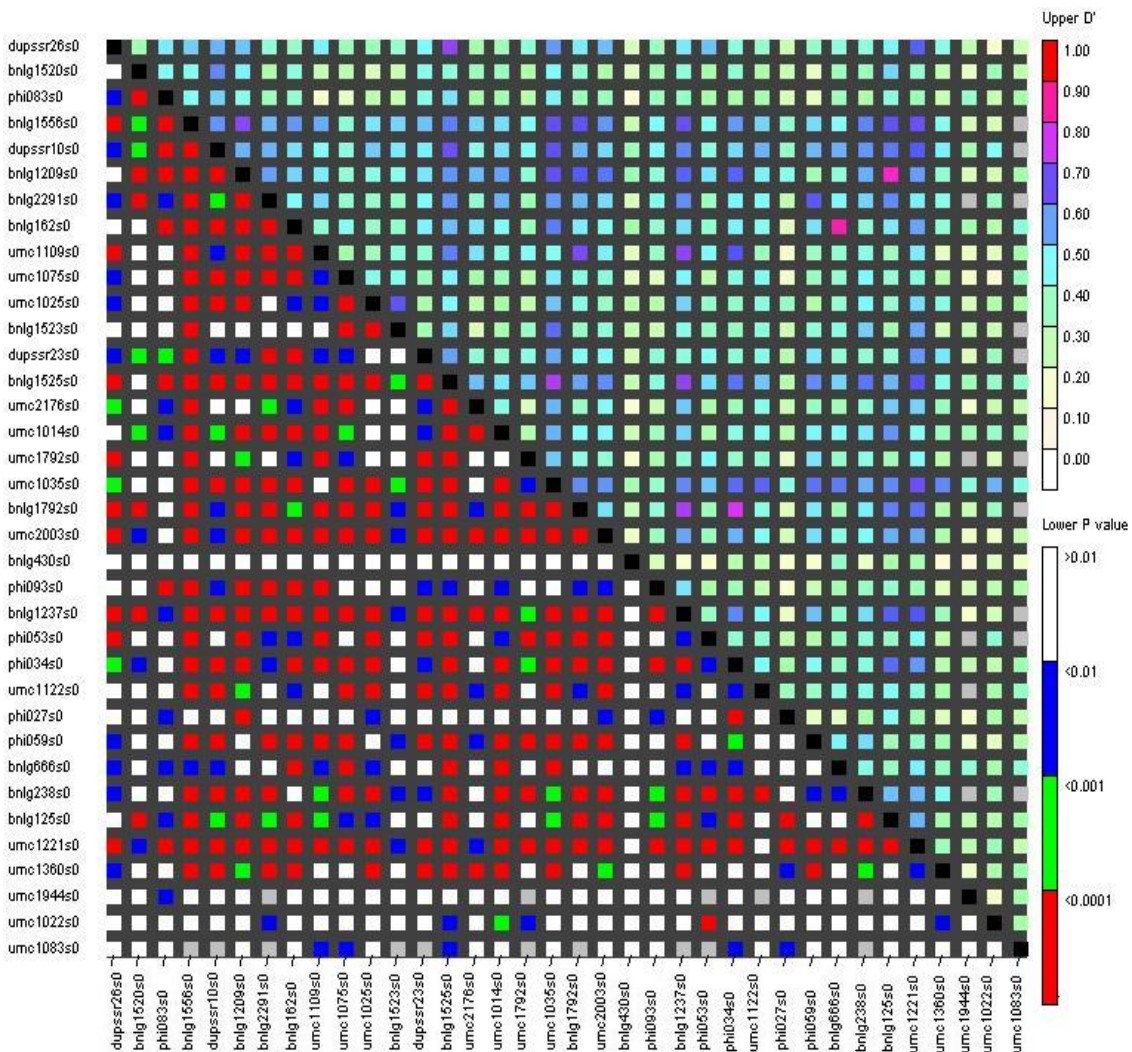
Параметри гаметске неравнотеже, коефицијент гаметске неравнотеже D' , коефицијент корелације r^2 и вероватноћа гаметске неравнотеже p представљени су топлотним картама за свих 36 маркера, граф 16. и 17.

Коефицијенти корелације између парова алела полиморфних локуса су мали код већине маркера ($r^2=0,0-0,4$). Највећи коефицијенти корелације утврђени су код парова: *bnlg1209* и *bnlg125*, *bnlg1729* и *bnlg1237*, *bnlg1792* и *phi034*, *bnlg1237* и *phi034*, са вредностима од 0,3 до 0,4 (граф. 16) Од ових парова, само се маркери *bnlg1792* и *phi034* налазе на истом хромозому, указујући на утицај епистазе и селекције на заједничко преношење одређених комбинација алела локуса на различитим хромозомима у наредне генерације, односно стварање гаметске неравнотеже.



Графикон 16. Топлотна карта корелација аелних фреквенција између два локуса - r^2 (изнад дијагонале) и значајности веза ових корелација - p вредност (испод дијагонале)

Коефицијент гаметске неравнотеже између парова полиморфних локуса кретао се од 0,18 до 0,89. Више од половине парова маркера имало је вредност коефицијента преко 0,5, тј. 50% од највеће теоријске вредности гаметске неравнотеже. Највећи коефицијенти гаметске неравнотеже утврђени су код парова: *bnlg1792* и *phi034*, *bnlg1209* и *bnlg125*, и *bnlg666* и *bnlg162*, са преко 80% од теоријски највеће вредности гаметске неравнотеже (граф. 17). Маркери *bnlg1792* и *phi034* су везани и налазе се заједно на хромозому 7, *bnlg666* и *bnlg162* на хромозому 8, док се *bnlg1209* и *bnlg125* налазе на различити хромозомима, 9 и 2, редом.



Графикон 17. Топлотна карта стандардизованих коефицијената неравнотеже између два локуса - D' (изнад дијагонале) и p - вредности вероватноћа гаметске неравнотеже (испод дијагонале)

У табели 11 . издвојен је 31 пар SSR маркера који се налазе на истом хромозому и у гаметској неравнотежи за ниво значајности $p < 0,01$. Вредности стандардизованих коефицијената неравнотеже кретале су се од 0,40 до 0,89, док је корелација између фреквенција алела код већине парова маркера била мања од 0,1, осим код парова маркера: *bnlg125* и *bnlg1520*, *umc1221* и *bnlg1237*, *phi034* и *bnlg1792*, *bnlg666* и *bnlg162*, *phi059* и *umc2003* код којих је утврђен нешто већи ниво гаметске неравнотеже. Коефицијент корелације између фреквенција парова алела кретао се од 0,0185 до 0,355.

Табела 11. Парови SSR маркера на истим хромозомима у гаметској неравнотежи

Маркер1	Маркер2	Хромозом	r ²	D'	p-Diseq
umc1122	umc1035	1	0,0343	0,6538	0,000
umc1122	bnlg1556	1	0,0406	0,5505	0,000
umc1035	dupssr26	1	0,0446	0,6088	0,000
umc1035	bnlg1556	1	0,0447	0,6870	0,000
bnlg1556	dupssr26	1	0,0626	0,5567	0,000
bnlg125	phi083	2	0,0680	0,4644	0,001
bnlg125	bnlg1520	2	0,1177	0,5489	0,000
phi083	bnlg1520	2	0,0941	0,4834	0,000
phi053	umc1025	3	0,0404	0,4261	0,000
phi053	dupssr23	3	0,0770	0,4858	0,000
bnlg1523	umc1025	3	0,0908	0,6795	0,000
umc1022	bnlg2291	4	0,0185	0,4040	0,002
umc2176	bnlg2291	4	0,0440	0,4366	0,000
phi093	bnlg2291	4	0,0589	0,4796	0,000
phi093	umc1109	4	0,0698	0,4123	0,000
umc1109	bnlg2291	4	0,0790	0,5469	0,000
umc2176	umc1109	4	0,0938	0,5315	0,000
umc1221	dupssr10	5	0,0545	0,6625	0,000
umc1221	umc1792	5	0,0681	0,4971	0,000
umc1221	bnlg1237	5	0,1928	0,6672	0,000
bnlg1237	umc1792	5	0,0981	0,4366	0,003
bnlg1237	dupssr10	5	0,0677	0,6258	0,000
bnlg238	umc1014	6	0,0342	0,5268	0,000
phi034	bnlg1792	7	0,3533	0,8046	0,000
bnlg666	umc1075	8	0,0228	0,4317	0,000
bnlg666	bnlg162	8	0,1147	0,8046	0,000
umc1360	bnlg162	8	0,0350	0,4405	0,000
umc1075	bnlg162	8	0,0488	0,4782	0,000
phi027	bnlg1209	9	0,0560	0,4744	0,000
bnlg1525	bnlg1209	9	0,0648	0,6143	0,000
phi059	umc2003	10	0,1155	0,5377	0,000

Релативно мале вредности мера гаметске неравнотеже, коефицијент корелације између већине парова локуса <0,1 и стандардизовани коефицијент неравнотеже <0,5 код 45% парова физички везаних локуса, указују истовремено да је рекомбинација између маркера мања од очекиване и да гаметска неравнотежа није великог интензитета, иако је статистички значајна.

Гаметска неравнотежа је утврђена на нивоу значајности 0,01 код 60,3% парова микросателитских маркера, при чему је у *Lancaster* групи било 19% парова у гаметској неравнотежи, а у *BSSS* групи само 9%. Wang et al. (2008) су утврдили 63,9% парова микросателитских маркера у гаметској неравнотежи за исти ниво значајности испитујући 95 инбред линија са 145 *SSR* маркера, и проценат парова микросателитских маркера у гаметској неравнотежи унутар четири групе, од 18,7% до 40,3%. Сличне резултате добили су Liu et al. (2003) анализирајући 260 инбред линија са 94 микросателита, при чему је у гаметској неравнотежи било 66% парова микросателитских маркера у целокупној популацији и 14,5-28,9% парова у зависности од групе. Знатно мањи проценат од 10% *SSR* парова у гаметској неравнотежи у укупном узорку и 0,6%-2,4% парова маркера у неравнотежи унутар група добијен је анализом 102 инбред линије са 47 *SSR* маркера (Remington et al. 2001).

Сагласност резултата гаметске неравнотеже са претходним истраживањима (Wang et al. 2008, Liu et al. 2003) и нешто виши проценти парова маркера у гаметској неравнотежи у односу на резултате Remington et al. (2001), може бити објашњено разликама у броју и полиморфности коришћених маркера и дивергентности коришћене гермплазме. Ниво гаметске неравнотеже је већи код популација уже генетичке основе него код дивергентне гермплазе (Ching et al. 2002; Liu et al. 2003). Такође, мањи број мање полиморфних маркера има мању моћ детекције гаметске неравнотеже. Иако је у овом истраживању коришћен мањи број маркера у односу на наведена истраживања, њихова велика полиморфност и дивергентност анализираних инбред линија значајно су повећали моћ откривања локуса у гаметској неравнотежи.

Мањи проценат утврђених парова у значајној гаметској неравнотежи унутар група сматра се последицом смањене моћи откривања гаметске неравнотеже, због мањег узорка, односно мањег броја испитаних линија (Remington et al. 2001), нарочито код великих растојања између маркера (Yan et al. 2009) и разлика у фреквенцији рекомбинација гена у почетним популацијама из којих су изведене линије груписане у различите групе. Мали ниво гаметске неравнотеже (9% парова маркера) међу линијама *BSSS* групе може бити резултат слободне оплодње међу 16 оснивачких родитељских линија из *Reid Yellow Dent* популације и значајног процента рекомбинације у даљим циклусима рекурентне селекције (Labate et al. 2000).

Разлике у дужини интервала са гаметском неравнотежом на различитим хромозомима објашњавају се различитим стопама рекомбинације, активностима ретротранспозона (Dooner and He 2008), утицајем селекционог брисања - фиксирање позитивних мутација природном селекцијом (енгл. *selective sweep*) (Jung et al. 2004).

Гаметска неравнотежа која је последица везаних гена, који су физички близу и налазе се на истом хромозому, од великог значаја је за асоцијативну анализу и селекцију помоћу маркера, док се неравнотежа настала услед структуре популације, сродности и генетичког дрефта мора контролисати и узети у обзир приликом анализе веза маркер-особина како би се стретило стварање лажних веза (Wang et al. 2008). Селекција на одређене особине и епистаза код одређених генотипова, такође, може утицати на стварање гаметске неравнотеже на већим сегментима хромозома (тзв. блоковима) која се због тога може утврдити и са мањим бројем физички удаљенијих маркера (Yan et al. 2011). С обзиром на то да је везаност гена имала значајан удео у стварању гаметске неравнотеже (70% везаних гена било је у гаметској неравнотежи) и да су структура популације и сродност инбред линија контролисане применом мешовитог линеарног модела, у великој мери је смањена вероватноћа детекције лажних асоцијација.

6.7 Дескриптивна статистика фенотипских података кукуруза

Средње вредности за сваку особину указују на приличну дивергентност испитаног сета инбред линија (таб.12). Просечне вредности за број дана од сетве до метличења кретао се од 66 дана, код линија *G68* и *G70* које потичу из популације европских тврдунаца, до 88 дана код касностасне *BSSS* линије *G32*, док је приближно средња вредности за ову особину износила 81 дан. Иако је разлика између линије која је најраније и најкасније цветала 22 дана, ова особина није много варијала у поређењу са другим особинама, узимајући у обзир вредност коефицијента варијације као мере дисперзије. Просечан број дана од сетве до свилања кретао се од 63 дана код линија *G68* и *G70* до 84 дана код линије *G32* са средњом вредношћу 77 дана и релативно малим коефицијентом варијације од 4,7%. Број дана од метличења до свилања био је најмањи код *BSSS* линије *G68* настале из синтетичке популације, а највиши *Lancaster* линије *G81* код типа *Mo17*. Варирање ове особине на нивоу свих генотипова било је веће од свих осталих особина са коефицијентом варијације од

36,8%. Просечне вредности висине биљке измерене су у опсегу од 131 cm (*G70*) до 223 cm (*G24*), док је висина биљке до клипа више варијала, од 42 cm (*G36*) до 101 cm (*G23*). Број листова изнад клипа варирао је око 11% и кретао се од 3,9 листова код најниже и најраностасније линије *G70* до 7,4 листова код *G21*, *BSSS* линије типа *B73*. Најмањи укупни број листова имале су линије *G70* и *G96*, а највећи линија *G21*. Дужина клипа измерена је у распону од 11,2 cm до 19,9 cm, а пречник клипа од 3,3 cm до 4,6 cm. Број редова зрна у клипу у просеку је износио 14 уз коефицијент варијације између свих генотипова од 11,6%. Просечне вредности броја зрна у реду клипа била је у опсегу од 16,6 до 35,2 зрна, са просечним бројем од 24 зрна у реду клипа. Маса 1000 зрна имала је просечну вредност 254,4 g и коефицијент варијације 13,4%. Вредност приноса зрна по биљци кретала се од 51,7 g до 140,3 g са средњом вредношћу од 100,9 g и коефицијентом варијације 17,3%.

Табела 12. Дескриптивна статистика за 13 особина кукуруза изабраних по *UPOV* дескриптору и по агрономском значају

Особина	Средња вредност	Минимум	Максимум	Опсег	Стандардна грешка	Варијанса	Коефицијент варијације (%)
DROLL	81,1	65,8	88,4	22,5	0,413	16,363	5,0
DSILK	77,2	63,5	83,6	20,1	0,370	13,135	4,7
ASI	4,0	0,9	7,3	6,4	0,152	2,211	36,8
PH	178,2	130,8	223,5	92,8	2,038	398,703	11,2
EH	71,6	42,3	101,5	59,2	1,388	185,089	19,0
LNAE	6,0	3,9	7,4	3,4	0,069	0,457	11,3
TLN	12,3	8,9	15,3	6,4	0,114	1,245	9,1
EL	14,7	11,2	19,9	8,7	0,183	3,204	12,2
ED	3,9	3,3	4,6	1,4	0,030	0,085	7,4
RN	14,3	10,8	18,9	8,1	0,169	2,758	11,6
KN	24,4	16,6	35,2	18,6	0,386	14,328	15,5
1000KW	254,4	166,0	311,2	145,2	3,487	1167,590	13,4
YPP	100,9	51,7	140,3	88,6	1,777	0,303	17,3

DROLL - број дана од ницања до метличења, *DSILK* - број дана од ницања до свилања, *ASI* - број дана од метличења до свилања, *PH* - висина биљке (cm), *EH* - висина биљке до вишег клипа (cm), *LNAE* - број листова изнад клипа, *TLN* - укупан број листова, *EL* - дужина клипа (cm), *ED* - пречник клипа (cm), *RN* - број редова зрна на клипу, *KN* - број зрна у реду клипа, *1000KW* - маса 1000 зрна (g), *YPP* - принос по биљци (g)

Резултати анализе фенотипских података указују на велику варијабилност испитиваних генотипова за велики број особина. Најмања варијабилност одређена је за број дана од сетве до свилања и за број дана од сетве до метличења са коефицијентима варијације 4,7% и 5%. Највећа варијабилност забележена је код броја дана од метличења до свилања, са коефицијентом варијације 36,8%. Овако велика варијабилност може бити последица веома сушних услова 2011., а нарочито 2012. године, који су успорили пораст свиле код инбред линија осетљивих на сушу. С обзиром на то да поленова зрна у односу на свилу (тучак цвета) много брже губе виталност и да су осетљивија на високе температуре, линије са великим временским периодом од ослобађања полена из антера до појаве свиле на клипу имају слабију оплодњу, мањи број формираних зрна и принос (Fonseca et al. 2004). Време појаве антера и свиле, њихов животни век, усклађеност ових појава важни су како при укрштању различитих инбред линија при стварању хибрида, тако и при одржавању линија самооплодњом.

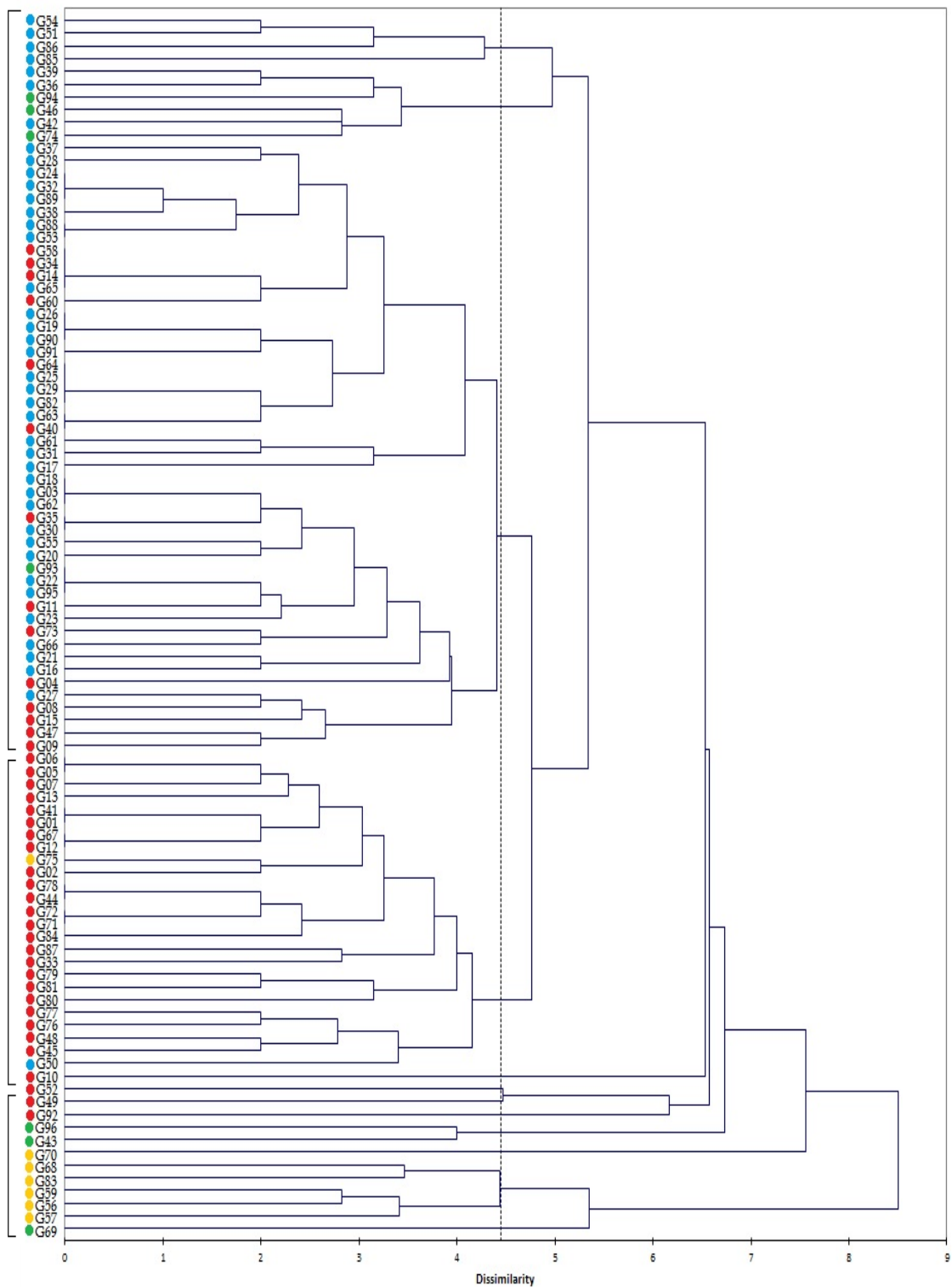
Велики фенотипски диверзитет генотипова забележен је и за друге особине: висина биљке до клипа, принос зрна, број зрна у реду, маса 1000 зрна и дужина клипа. Велику варијабилност ових особина потврђују резултати анализе 242 инбред линије основне збирке кинеске националне банке гена у којој је највећа варијабилност утврђена за висину биљке до клипа са коефицијентом варијабилности 36,6%, затим за масу 1000 зрна (27,1%), дужину клипа (18,4%), висину биљке (17,3%) и пречник клипа (14,3%) (Li et al. 2004b). Значај фенотипске варијабилности давно је препознат и рад на проширивању генетичке основе комерцијалних инбред линија кукурузног појаса огледа се у уношењу донор гена из локалних популације кукуруза Латинске Америке (Goodman 2005, Balint-Kurti 2006, Salhuana and Pollak 2006). Такође се истиче значај диверзитета старих инбред линија за које је истекао рок заштите ауторских права у оплемењивачким програмима (Nelson 2008).

6.8 Кластер анализа фенотипских података кукуруза применом *UPGMA*

Кластер анализа фенотипских података применом непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином, расподелила је генотипове кукуруза на основу Еуклидског растојања (граф.18).

Иако се на дендрограму може уочити груписање инбред линије које припадају трима хетеротичним групама: *BSSS*, *Lancaster* и независној групи, уочено је више одступања и неправилности у груписању. У оквиру *BSSS* кластера, налази се четрнаест *Lancaster* линија и четири *Iodent* линије. Међу *Lancaster* линијама, груписала се једна *BSSS* и једна линија која потиче од италијанског тврдуња. *Iodent* линије се нису груписале заједно, док су линије независне хетеротичне групе су формирале посебан кластер. Инбред линије које су према својим педигреима сродне, попут линија *G40* и *G41*, нису се груписале заједно, на супрот резултатима кластер анализе молекуларних података (граф. 8). Ипак, линије које имају одређени проценат заједничке гермплазме, као што су *Iodent* линије *G96* и *G43*, и три *Lancaster* линије *G79*, *G80* и *G81* груписане су заједно овим методом, без обзира на тип коришћених података, молекуларних или фенотипских.

Генетички најудаљније линије, које су се прве издвојиле у посебне кластере су: *Iodent* линија *G69*, затим независне хетеротичне групе *G43*, затим три линије егзотичне гермплазме, преклом из Јужне Америке (*G56*, *G57* и *G59*), и две линије француског порекла. Изузев линије *G69*, наведене линије независног генетичког материјала слично су груписане и анализом молекуларних података.



Графикон 18. Дендрограм инбред линија кукуруза добијен кластер анализом фенотипских података применом *UPGMA* (плава-*BSSS*, црвена-*Lancaster*, зелена-*Iodent*, жута- независна хетеротична група)

Резултати кластер анализе *UPGMA* методом на основу фенотипских података били су у мањој мери сагласни са педигреима линија, него што су били резултати исте анализе засновани на молекуларним подацима. Кластери инбред линија добијени анализом молекуларних и фенотипских података нису били у потпуној сагласности. До сличних налаза дошли су Gunjasa et al. (2008) уочавајући разлике и у односима између (распореду) кластера и у саставу инбред линија које чине кластере добијене анализом 32 морфолошке особине и 28 микросателитских маркера. Аутори, такође, истичу предност молекуларних маркера над морфолошким у погледу моћи дискриминације и сагласности са педигреима. У другом истраживању, морфолошка растојања добијена анализом 25 особина и вредности хетерозиса за 12 особина показала су се као мање поуздана за идентификацију 58 инбред линија кукуруза у односу на податке добијене генотипизацијом са 100 *SSR* маркера (Heckenberger et al. 2005).

Ови резултати се донекле које са резултатима Babić et al. (2012) који су, поређењем морфолошких и генетичких сличности, закључили да морфолошки подаци могу бити поуздани показатељи генетичке удаљености инбред линија. Они су утврдили просечну вредност коефицијента корелације за све инбред линије 0,64 и сагласности морфолошких и генетичких података са педигреима. Разлог мање поузданости фенотипских података утврђене у овом истраживању може бити мањи број фенотипских особина коришћених за груписање инбред линија у односу на број микросателитских маркера. Такође, фактори спољне средине, нарочито услови ваздушне и земљишне суше који су били веома изражени током 2011. и нарочито 2012. године, утицали су на већа фенотипска варирања између локалитета и година. Молекуларни маркери, пак, указују на присуство одређеног облика алела датог локуса независно од варирања еколошких услова и самим тим боље осликавају односе између инбред линија у погледу њихових педигреа и поузданије их групишу у хетеротичне групе. На основу тога се може претпоставити да су комбинационе способности инбред линија у већој корелацији са локусима коришћених маркера, него са фенотипским особинама.

Babić et al. (2008) су утврдили да су *UPOV* дескриптори погодни и поуздани за класификацију инбред линија према сродности у хомогене групе. Применом Ward's метод кластер анализе на 30 испитиваних особина, груписали су 45 инбред линија у четири кластера у сагласности са педигреима испитиваних инбред линија и

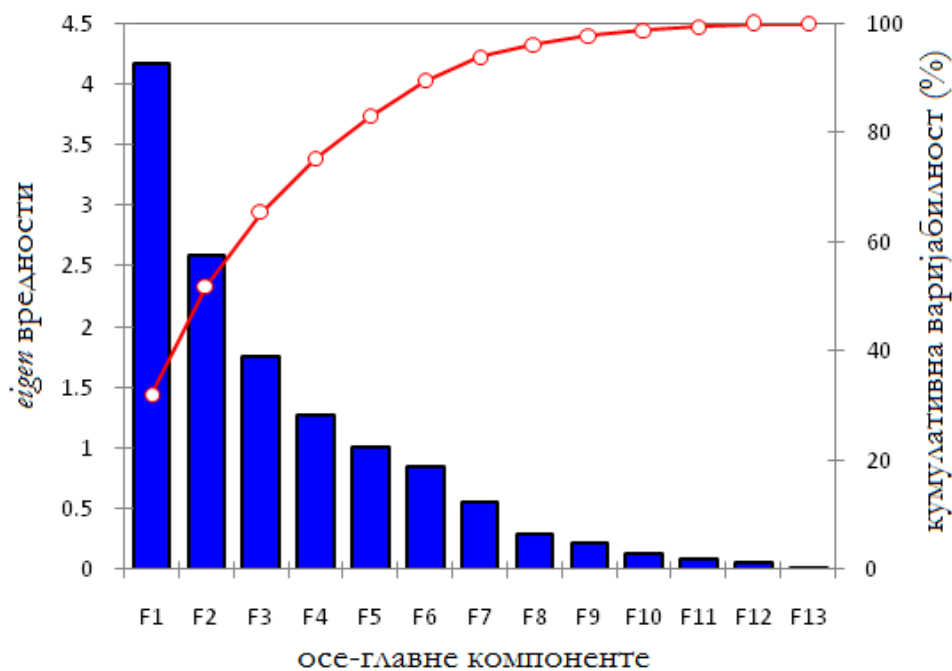
са дискриминационом анализом. Аутори указују на значај и могућност примене метода приликом избора тестера и придруживање линија непознатог порекла хетеротичним групама.

Smith and Smith (1989) су супротног мишљења истичући да квантитативне фенотипске особине, под сложеним генетичким механизам контроле, нису толико поуздане за класификацију генотипова, нарочито уколико се налазе у корелацији, као и због великог утицаја фактора спољашње средине на њихово испољавање. Услед ових недостатака фенотипске класификације, Vabić et al. (2008) предлажу примену молекуларних метода за дискриминацију инбред линија које су сличне или исте према морфолошким особинама и за оцену агрономски значајних комплексних особина у неколико понављања у циљу добијања поузданих података.

Предност молекуларних маркера у утврђивању међусобних односа инбред линија, у односу на податке о педигрема, је у томе што подаци о педигреу често нису потпуни и не пружају увид о односу алела родитеља који су пренети на потомство и претпостављају једнаку дистрибуцију алела оба родитеља приликом процењивања сродности линија, на основу њихових педигреа тј. заједничких предака.

6.9 Анализа главних компоненти фенотипских података кукуруза

Анализа главних компоненти смањила је 13 почетних променљивих којима су објашњени подаци на пет некорелираних фактора са *eigen* вредностима већим од 1. Ови фактори трансформисани су из корелационе у факторску матрицу варимакс ротацијом. Првих пет главних компоненти су збирно објасниле 83% укупне варијабилности изворних података (тзв. комуналитет). У циљу лакшег визуелног представљања односа испитаних генотипова, издвојене су прве две главне компоненте које су објасниле највећи проценат варијансе, 52% укупне варијабилности почетних података (граф. 19).



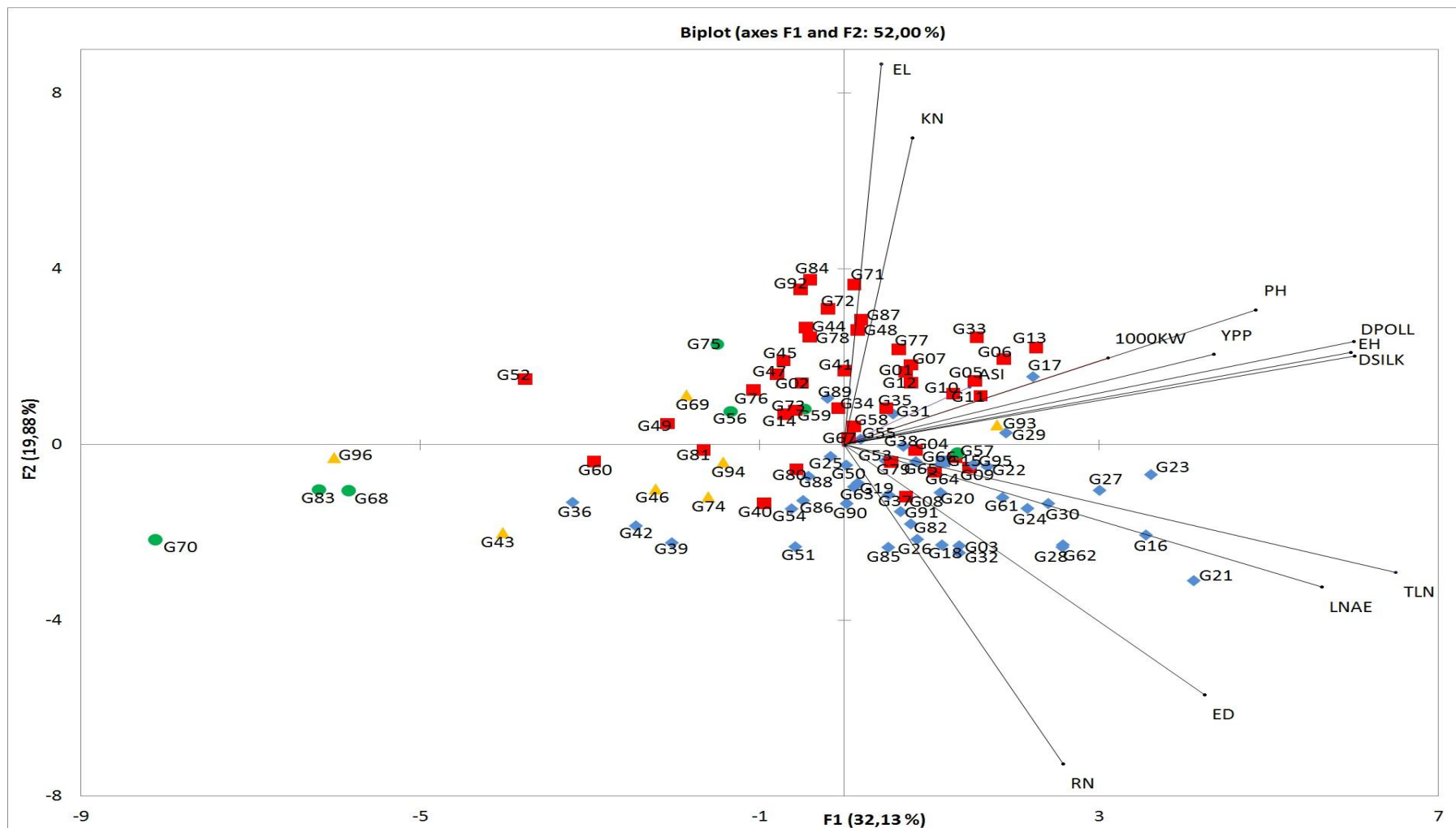
Графикон 19. Главне компоненте са кумулативним вредностима објашњене фенотипске варијабилности и *eigen* вредностима

Прва главна компонента (F_1) објаснила је 32,13% укупне варијабилности података. На основу факторских оптерећења (енгл. *factor loading*) са вредностима $>0,60$ након варимакс ротације издвојене су променљиве које су највише допринеле, односно дефинисале прву главну компоненту: број дана до метличења (0,759), број дана до свилања (0,760), висина биљке (0,613), висина биљке до клипа (0,754), укупан број листова (0,821) и број листова изнад клипа (0,711). Друга главна компонента (F_2) објаснила је 19,88% укупне варијабилности и њу су од особина највише дефинисале дужина клипа (0,862), број редова зрна на клипу (-0,723) и број зрна у реду клипа (0,694). Трећа главна компонента није објединила више међусобно зависних променљивих, од свих особина њу је највише дефинисао само принос зрна по биљци (0,680).

Пројекције изворних променљивих (особина) и генотипова између прве две главне компоненте омогућују сагледавање одређених карактеристика анализираних инбред линија (граф. 20). Прва главна координата раздвојила је већину *Lancaster* линија, изнад главне осе, од већине *BSSS* инбред линија, испод главне осе. Већина линија *Lancaster* групе груписала се дуж вектора који одговарају особинама дужина клипа и број зрна у реду клипа, док су се *BSSS* линије груписале дуж вектора који одговарају особинама: пречник клипа, број редова зрна, укупан број листова и број

листова изнад клипа. Такав распоред указује на особеност *Lancaster* линија да у просеку имају дуже и уже клипове, а *BSSS* линија шире и краће, као и већи број интернодија, тј. листова. Линије независне хетеротичне групе, које потичу од европских тврдунаца, пројектоване су у супротном смеру од смера пружања вектора дефинисаних временом цветања (*DPOLL*, *DSILK*), висином биљака (*EH*, *PH*) и приносом зрна по биљци (*YPP*) што је у сагласности са њиховом раностасношћу, ниским хабитусом и малом родношћу. Анализиране Iodent линије биле су у просеку раностасније и ниже у односу на *Lancaster* и *BSSS* линије, групишући се углавном насупрот векторима за време цветања и висину. Ни *Lancaster* и ни *BSSS* линије нису показале склоност груписању дуж вектора који се односи на време цветања, висину или принос, неиспољавајући особеност у погледу ових особина.

Biplot две главне компоненте омогућио је и одређивање неких генотипова са екстремним вредностима. Линије *G70* и *G68* су најраније цветале, биле су најниже и најмање приносне. *G21* и *G16* су имале највећи број листова и број листова изнад клипа. За остале особине генотипова са екстремним вредностима нису уочени. Пројекцијом особина и генотипова између прве и треће, и друге и треће главне компоненте изгубљено је доста информација о односу између генотипова, особина, и генотипова и особина услед значајног смањења варијансе (ови графикони нису представљени).



Графикон 20. Пројекције особина и генотипова између прве две главне компоненте. Плава-*BSSS*, црвена-*Lancaster*, зелена-*Iodent*, жута-независна хетеротична група

Анализа главних компоненти издвојила је линије груписане према хетеротичним групама и истакла опште карактеристике линија здружених у кластере у погледу времена цветања, висине биљке и особина клипа. На дводимензионалном приказу резултата анализе прве две главне компоненте лако су се уочиле линије које су међусобно сличне по већем броју испитиваних особина у оквиру истих хетеротичних група, линије које према својим особинама имају прелазни облик, тј. сличне су линијама других хетеротичних група, као и линије које се издвајају од осталих према екстремним вредностима одређених особина. Вектор који одговара приносу зрна по биљци, очигледно није имао велики допринос ниједној од прве две компоненте, те су инбред линије које имају веће вредности приноса зрна нису развојене дуж овог вектора.

За доњу граничну вредност факторских оптерећења, која указује на релативну важност особине у дефинисању фактора, узета је вредност 0,6 (Field 2005, Tabachnick and Fidell 2007). Овај критеријум издвојио је у првој главној компоненти особине које су биле и у међусобној углавном средње јакој и јакој позитивној корелацији: број дана до метличења, број дана до свилања, висина биљке, висина биљке до клипа, укупан број листова и број листова изнад клипа. Друга главна компонента дефинисана је особинама које се односе на грађу клипа: дужина клипа, број редова зрна на клипу и број зрна у реду клипа.

Главне компоненте могу се посматрати као засебне особине погодне за проналажење *QTL*, при чему се повећава моћ откривања *QTL* и смањује вероватноћа откривања лажно позитивних веза због обједињавања међусобно зависних променљивих у главне компоненте које нису у корелацији. Сходно томе, селекција на одређени *QTL* који је у статистички значајној вези са главном компонентом, би била уједно и селекција на више особина одједном које дефинишу ту главну компоненту (Uradyayula et al. 2006, Choe and Rocheford 2012).

Тако би селекција на прву главну компоненту у овом истраживању, била усмерена ка одабиру раностаснијих, нижих биљака са мањим бројем листова, или пак касностаснијих и виших са већом фотосинтетичком површином, у зависности од циља оплемењивања. С обзиром на утврђене статистички значајне средње јаке негативне корелације између дужине клипа и број редова зрна, јаке позитивне корелације између дужине клипа и броја зрна у реду клипа, селекција на другу главну компоненту би подразумевала одабир биљака са дужим клипом, већим бројем зрна у

реду и мањим бројем редова зрна или са обрнутом грађом клипа. Селекција на трећу главну компоненту, узимајући у обзир да дефинисана само једном особиним, приносом зрна, не би имала предност над самом селекцијом на принос зрна, те би се смисао ове мултиваријационе анализе губио.

6.10 Анализа варијансе фенотипских података кукуруза

Анализа варијансе указала је на постојање статистички значајних разлика у испитиваним особинама између проучаваних инбред линија. Анализом варијансе броја дана од сетве до метличења утврђено је постојање статистички значајних разлика између генотипова, локалитета, година, интеракција генотип-година и локалитет-година на нивоу значајности 1% (таб. 13).

Табела 13. Анализа варијансе за време од сетве до метличења кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	289	13464,093	46,589	20,045	< 0,0001**
Генотип	95	5924,338	62,361	26,832	< 0,0001**
Локалитет	2	2748,055	1374,027	591,193	< 0,0001**
Година	1	3613,760	3613,760	1554,868	< 0,0001**
Генотип*локалитет	95	233,384	2,457	1,057	0.394
Генотип*година	95	471,962	4,968	2,138	< 0,0001**
Локалитет*година	1	472,594	472,594	203,340	< 0,0001**
Грешка	95	220,795	2,324		
Укупно	384				

За разлику од осталих особинама, број дана од сетве до метличења, број дана од сетве до свилања и број дана од метличења до свилања мерени су на два локалитета. Линије кукуруза на Римским Шанчевима током две године просечно су метличиле пет дана касније ($83,6 \pm 0,1$) у односу на линије на локалитету Србобран ($78,3 \pm 0,1$). Током 2011. године генотипови су статистички значајно раније метличили ($77,9 \pm 0,1$) у односу на 2012. годину ($84,0 \pm 0,1$) (таб. 14).

Табела 14. Фишеров тест најмање значајних разлика (НЗР) аритметичких средина броја дана до метличења кукуруза између локалитета и година

Локалитет/ Година	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p
Р. Шанчеви - Србобран	5,340	6,627	1,985	< 0,0001**
2011 - 2012	-6,135	-7,613	1,985	< 0,0001**

НЗР: 1,600

Испитивани генотипови имали су статистички значајне разлике у погледу времена свилања за ниво значајности од 1%. Такође је утврђено постојање значајних разлика између локалитета, година, интеракција генотип-локалитет, генотип-година и локалитет-година ове особине (таб. 15).

Табела 15. Анализа варијансе за време од сетве до свилања кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	289	9644,460	33,372	29,548	< 0,0001**
Генотип	95	5035,402	53,004	46,930	< 0,0001**
Локалитет	2	2283,138	1141,569	1010,754	< 0,0001**
Година	1	1363,157	1363,157	1206,950	< 0,0001**
Генотип*локалитет	95	174,375	1,836	1,625	0,009**
Генотип*година	95	324,628	3,417	3,026	< 0,0001**
Локалитет*година	1	463,760	463,760	410,617	< 0,0001**
Грешка	95	107,295	1,129		
Укупно	384	9751,755			

На локалитету Римски Шанчеви током две године за линије кукуруза број дана од сетве до свилања износио је око 80 дана ($79,6 \pm 0,1$), што је статистички значајно касније у односу на време свилања линија у Србобрану ($74,7 \pm 0,1$). Током 2011. године генотипови су око четири дана раније свилали ($75,3 \pm 0,1$) у односу на 2012. годину ($79,0 \pm 0,1$) (таб. 16).

Табела 16. НЗР тест аритметичких средина броја дана од сетве до свилања кукуруза

Локалитет/ Година	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p
Р. Шанчеви - Србобран	4,874	6,573	1,985	< 0,0001**
2011 - 2012	-3,768	-5,082	1,985	< 0,0001**
НЗР: 1,472				

Резултати анализа варијансе за време од метличења до свилања упућују на постојање статистички значајне разлике варијанси у броју дана од метличења до свилања између генотипова, локалитета и година. Разлика за сва три извора варијабилности била је статистички значајна на нивоу од 1%, док је разлика интеракција фактора генотип-година утврђена на нивоу значајности од 5% (таб. 17).

Табела 17. Анализа варијансе за број дана од метличења до свилања кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	289	1543,012	5,339	4,745	< 0,0001**
Генотип	95	722,600	7,606	6,759	< 0,0001**
Локалитет	2	23,549	11,774	10,463	< 0,0001**
Година	1	537,943	537,943	478,048	< 0,0001**
Генотип*локалитет	95	104,730	1,102	0,980	0,540
Генотип*година	95	154,147	1,623	1,442	0,038*
Локалитет*година	1	0,042	0,042	0,037	0,848
Грешка	95	106,903	1,125		
Укупно	384	1649,914			

Разлика између просечних вредности за број дана од појаве мушке до појаве женске цвасти кукуруза била је већа на Римским Шанчевима него у Србобрану. Просечан број дана од метличења до свилања на Римским Шанчевима био је 3,5 дана, док је у Србобрану био око 4 дана. Међутим, разлика аритметичких средина ове особине на два локалитета испитана тестом најмање значајних разлика није била статистички значајна на нивоу значајности од 5%, упркос значајној разлици варијанси утврђеној анализом варијансе, која је као тест осетљивија. Насупрот томе, број дана од метличења до свилања у 2012. години био је статистички значајно већи у поређењу са 2011. годином. У 2011. години овај период био је значајно краћи ($2,6 \pm 0,1$) него годину касније ($5 \pm 0,1$) (таб. 18).

Табела 18. НЗР тест аритметичких средина броја дана од метличења до свилања кукуруза између испитиваних локалитета и година

Локалитет/ Година	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p
Р. Шанчеви - Србобран	0,466	1,655	1,985	0,101
2011 - 2012	-2,367	-8,406	1,985	< 0,0001**
НЗР: 0,559				

Анализа варијансе указала је на постојање статистички значајних разлика између висина испитиваних инбред линија, као и на значајне разлике између генотипова у зависности од локалитета, године анализе и њихових интеракција на нивоу значајности 1% (таб. 19).

Табела 19. Анализа варијансе за висину инбред линија кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	362033,970	942,797	37,128	< 0,0001**
Генотип	95	198552,140	2090,023	82,306	< 0,0001**
Локалитет	2	50760,577	25380,288	999,492	< 0,0001**
Година	1	86878,805	86878,805	3421,342	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	16149,665	84,998	3,347	< 0,0001**
Генотип*година	95	9300,169	97,897	3,855	< 0,0001**
Локалитет*година	1	392,614	392,614	15,461	< 0,0001**
Грешка	95	2412,354	25,393		
Укупно	479	364446,324			

Просечна висина генотипова била је највећа на локалитету Сомбор и износила је $185,1 \pm 0,7$ cm. У Србобрану, просечна висина свих инбред линија била је значајно нижа ($176,1 \pm 0,4$ cm), док су на Римским Шанчевима испитиване линије биле најниже ($173,1 \pm 0,4$ cm). Статистички значајне разлике аритметичких средина висина биљака на нивоу значајности 1% израчунате су за све комбинације локалитета. Просечна висина линија на свим локалитетима била је статистички значајно нижа 2012. године ($163,1 \pm 0,5$ cm) у односу на ранију годину ($193,2 \pm 0,3$ cm) (таб. 20), за чак 30 cm.

Табела 20. НЗР тест аритметичких средина висине инбред линија кукуруза

Локалитет/ Година	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-11,940	-15,426	1,962	< 0,0001**	1,257
Р. Шанчеви - Србобран	-2,979	-5,092	1,962	< 0,0001**	
Србобран - Сомбор	-8,961	-11,576	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	30,083	51,412	1,962	< 0,0001**	1,027

Резултати анализе варијансе за висину биљака од површине земље до примарног клипа били су исти као и за укупну висину биљака, показујући статистички значајне разлике између варијанси ове особине посматрано по генотиповима, локалитетима, годинама и њиховим интеракцијама (таб. 21).

Табела 21. Анализа варијансе за висину до примарног клипа инбред линија кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	107505,153	279,961	30,109	< 0,0001**
Генотип	95	90907,624	956,922	102,914	< 0,0001**
Локалитет	2	939,045	469,523	50,496	< 0,0001**
Година	1	8196,413	8196,413	881,498	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	4490,681	23,635	2,542	< 0,0001**
Генотип*година	95	2816,136	29,644	3,188	< 0,0001**
Локалитет*година	1	155,253	155,253	16,697	< 0,0001**
Грешка	95	883,337	9,298		
Укупно	479	108388,489			

Просечна висина клипа биљака у Сомбору ($68,6 \pm 0,3$ cm) била је статистички значајно мања у односу на просечне висине клипа измерене на Римским Шанчевима ($70,4 \pm 0,2$ cm) и у Србобрану ($73,3 \pm 0,2$ cm). Такође, просечне вредности ове особине на Римским Шанчевима и у Србобрану су биле статистички значајно различите. Просечна висина клипа била је статистички значајно нижа 2012. године ($66,2 \pm 0,3$ cm) у односу на 2011. годину ($75,4 \pm 0,2$ cm) (таб. 22).

Табела 22. НЗР тест аритметичких средина висине до примарног клипа инбред линија кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	4,693	11,335	1,962	< 0,0001**	0,673
Р. Шанчеви - Србобран	2,879	9,198	1,962	< 0,0001**	
Србобран - Сомбор	1,814	4,382	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	9,240	29,522	1,962	< 0,0001**	0,549

Статистички значајне разлике варијанси броја листова изнад примарног клипа у оквиру генотипова, локалитета, година, и њихових интеракција утврђене су на нивоу значајности од 1% (таб. 23).

Табела 23. Анализа варијансе броја листова изнад примарног клипа кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	303,838	0,791	15,687	< 0,0001**
Генотип	95	186,161	1,960	38,851	< 0,0001**
Локалитет	2	14,105	7,053	139,829	< 0,0001**
Година	1	27,906	27,906	553,265	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	20,243	0,107	2,112	< 0,0001**
Генотип*година	95	52,552	0,553	10,967	< 0,0001**
Локалитет*година	1	2,872	2,872	56,941	< 0,0001**
Грешка	95	4,792	0,050		
Укупно	479	308,630			

Просечан број листова изнад примарног клипа значајно се разликовао на локалитету Римских Шанчева ($6,93 \pm 0,02$), Србобрана ($6,85 \pm 0,02$) и Сомбора ($6,74 \pm 0,03$), као и између 2011. ($6,57 \pm 0,02$) и 2012. године ($7,11 \pm 0,02$) (таб. 24).

Табела 24. НЗР тест аритметичких средина броја листова изнад примарног клипа

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	0,188	4,781	1,962	< 0,0001**	0,064
Р. Шанчеви - Србобран	0,073	2,461	1,962	0,014*	
Србобран - Сомбор	0,115	2,921	1,962	0,004**	
2011 - 2012	-0,539	-18,174	1,962	< 0,0001**	0,052

Укупан број листова испитиваних инбред линија статистички је значајно варирао у зависности од генотипа, локалитета, године и интеракција ови фактора (Таб). Просечне вредности ове особине измерене у Србобрану ($12,59 \pm 0,02$), Сомбору ($11,55 \pm 0,04$) и на Римским Шанчевима ($12,46 \pm 0,02$) међусобно су се статистички значајно разликовале на новоу значајности од 1%. Разлике у просечном броју листова у 2011. ($12,27 \pm 0,02$) и 2012. години ($12,14 \pm 0,027$) биле су, такође, статистички веома значајне (таб. 25 и 26).

Табела 25. Анализа варијансе укупног броја листова кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	708,534	1,845	17,418	< 0,0001**
Генотип	95	588,375	6,193	58,466	< 0,0001**
Локалитет	2	66,208	33,104	312,500	< 0,0001**
Година	1	1,562	1,562	14,748	0,000**
Генотип*локалитет	190	29,387	0,155	1,460	0,020*
Генотип*година	95	18,651	0,196	1,853	0,001**
Локалитет*година	1	4,351	4,351	41,075	< 0,0001**
Грешка	95	10,064	0,106		
Укупно	479	718,598			

Табела 26. НЗР тест аритметичких средина укупног броја листова кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	р	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	1,046	24,017	1,962	< 0,0001**	0,071
Р. Шанчеви - Србобран	-0,132	-4,000	1,962	< 0,0001**	
Србобран - Сомбор	0,915	20,994	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	0,128	3,873	1,962	0,0001**	0,058

Просечна дужина клипа линија показала је значајну варијабилност на нивоу генотипова, локалитета, година и интеракција генотип-година и локалитет-година. Разлике у дужини клипа биле су статистички значајне на нивоу од 1% (таб. 27).

Табела 27. Анализа варијансе дужине клипа кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	р
Модел	384	2091,950	5,448	12,172	< 0,0001**
Генотип	95	1498,042	15,769	35,232	< 0,0001**
Локалитет	2	159,989	79,995	178,730	< 0,0001**
Година	1	235,200	235,200	525,503	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	106,112	0,558	1,248	0,114
Генотип*година	95	82,093	0,864	1,931	0,001**
Локалитет*година	1	10,513	10,513	23,490	< 0,0001**
Грешка	95	42,519	0,448		
Укупно	479	2134,469			

Разлике у просечним дужинама клипа биле су значајне између свих локалитета. У Сомбору је просечна вредност дужине клипа инбред линија била највећа ($15,02 \pm 0,06$ cm), затим у Србобрану ($14,4 \pm 0,04$ cm) и на Римским Шанчевима ($14,3 \pm 0,04$ cm). Много већа разлика, такође статистички значајна између мерених вредности дужине клипа, испољила се између 2011. ($15,37 \pm 0,03$ cm) и 2012. године ($13,803 \pm 0,05$ cm) (таб. 28).

Табела 28. НЗР тест аритметичких средина дужине клипа кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	р	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-0,726	-9,533	1,962	< 0,0001**	0,124
Р. Шанчеви - Србобран	-0,151	-2,624	1,962	0,009**	
Србобран - Сомбор	-0,575	-7,550	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	1,565	27,177	1,962	< 0,0001**	0,101

Анализа варијансе утврдила је постојање статистички значајних разлика у пречнику клипа између инбред линија, локалитета, године и интеракције генотип-година на нивоу значајности 1% (таб. 29).

Табела 29. Анализа варијансе пречника клипа кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободe	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	57,471	0,150	11,040	< 0,0001**
Генотип	95	38,920	0,410	30,221	< 0,0001**
Локалитет	2	4,772	2,386	176,012	< 0,0001**
Година	1	8,385	8,385	618,574	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	3,043	0,016	1,181	0,182
Генотип*година	95	2,350	0,025	1,825	0,002**
Локалитет*година	1	0,001	0,001	0,038	0,845
Грешка	95	1,288	0,014		
Укупно	479	58,759			

Тестирањем најмањих значајних разлика утврђене су статистички значајне разлике на нивоу значајности од 1% у просечним вредностима пречника клипа између локалитета Римски Шанчеви ($3,86 \pm 0,01$ cm) и Сомбор ($3,96 \pm 0,01$ cm), и Србобран ($3,86 \pm 0,01$ cm) и Сомбор. Разлике између просечних вредности дужина клипа генотипова оцењених у Србобрану и на Римским Шанчевима нису биле значајне. Утицај године на варирање ове особине био је изражен у статистички значајној разлици између 2011. ($4,04 \pm 0,01$ cm) и 2012. ($3,75 \pm 0,01$ cm) године (таб. 30).

Таб 30. НЗР тест аритметичких средина пречника клипа кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-0,103	-7,807	1,962	< 0,0001**	0,021
Р. Шанчеви - Србобран	-0,003	-0,305	1,962	0,760	
Србобран - Сомбор	-0,100	-7,576	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	0,296	29,635	1,962	< 0,0001**	0,017

Просечан број редова зрна у клипу показао је значајну варијабилност на нивоу генотипова, година и интеракција генотип-година и локалитет-година на нивоу статистичке значајности од 1% (таб. 31).

Табела 31. Анализа варијансе броја редова зрна у клипу кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободe	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	1461,391	3,806	18,609	< 0,0001**
Генотип	95	1305,070	13,738	67,174	< 0,0001**
Локалитет	2	7,952	3,976	19,442	< 0,0001**
Година	1	34,886	34,886	170,583	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	52,379	0,276	1,348	0,052
Генотип*година	95	59,595	0,627	3,067	< 0,0001**
Локалитет*година	1	1,509	1,509	7,380	0,008**
Грешка	95	19,428	0,205		
Укупно	479	1480,820			

Разлике средњих вредности броја редова зрна инбред линија мерених у Сомбору ($14,32 \pm 0,05$), Србобрану ($14,27 \pm 0,03$) и на Римским Шанчевима ($14,34 \pm 0,03$) нису биле статистички значајне, наспрот разлици просечних вредности утврђених 2011. ($14,61 \pm 0,02$) и 2012. године ($14,01 \pm 0,03$) (таб. 32).

Табела 32. НЗР тест аритметичких средина броја редова зрна у клипу кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	0,024	0,412	1,962	0,680	0,093
Р. Шанчеви - Србобран	0,069	1,598	1,962	0,110	
Србобран - Сомбор	-0,046	-0,796	1,962	0,426	
2011 - 2012	0,603	13,943	1,962	< 0,0001**	0,076

Статистички значајне разлике варијанси броја листова изнад примарног клипа у оквиру генотипова, локалитета, година, интеракција генотип-година и локалитет-година утврђене су на нивоу значајности од 1% (таб. 33).

Табела 33. Анализа варијансе броја зрна у реду клипа кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	11273,094	29,357	11,260	< 0,0001**
Генотип	95	6605,270	69,529	26,668	< 0,0001**
Локалитет	2	920,717	460,359	176,568	< 0,0001**
Година	1	2455,403	2455,403	941,757	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	536,272	2,822	1,083	0,336
Генотип*година	95	599,496	6,310	2,420	< 0,0001**
Локалитет*година	1	155,936	155,936	59,808	< 0,0001**
Грешка	95	247,690	2,607		
Укупно	479	11520,784			

Највећи просечан број зрна у реду клипа утврђен је код генотипова на локалитету Сомбор и износио је $24,78 \pm 0,16$. Ова вредност се није значајно разликовала од просечног броја зрна инбред линија у Србобрану ($24,21 \pm 0,10$), али је била значајно већа од просечног броја зрна утврђеног на Римским Шанчевима ($23,52 \pm 0,10$). Значајно већи број зрна у реду формиран је на клиповима инбред линија у 2011. години ($26,87 \pm 0,08$) у поређењу са бројем зрна у 2012. ($21,81 \pm 0,11$) (таб. 34).

Табела 34. НЗР тест аритметичких средина броја зрна у реду клипа кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	Р	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-1,260	-6,864	1,962	< 0,0001**	0,298
Р. Шанчеви - Србобран	-1,197	-8,620	1,962	< 0,0001**	
Србобран - Сомбор	-0,064	-0,348	1,962	0,728	
2011 - 2012	5,059	36,444	1,962	< 0,0001**	0,244

Анализом варијансе масе 1000 зрна утврђено је постојање статистички значајних разлика између генотипова, локалитета, година и интеракција генотип-година и локалитет-година на нивоу значајности 1% (таб. 35).

Табела 35. Анализа варијансе масе 1000 зрна кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	р
Модел	384	829725,777	2160,744	9,197	< 0,0001**
Генотип	95	576187,633	6065,133	25,815	< 0,0001**
Локалитет	2	38672,659	19336,329	82,301	< 0,0001**
Година	1	114823,324	114823,324	488,723	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	47135,936	248,084	1,056	0,388
Генотип*година	95	38013,606	400,143	1,703	0,005**
Локалитет*година	1	14892,620	14892,620	63,388	< 0,0001**
Грешка	95	22319,810	234,945		
Укупно	479	852045,588			

Разлике просечних вредности масе 1000 зрна између генотипова на Римским Шанчевима ($258,17 \pm 0,82$ g) и у Сомбору ($258,58 \pm 1,31$ g) нису биле значајне. Просечна вредност масе 1000 зрна линија у Србобрану ($251,36 \pm 0,82$ g) била је значајно нижа од остала два локалитета. У 2012. години просечна вредност масе 1000 зрна ($238,75 \pm 0,95$ g) била је за око 35 g нижа у односу на 2011. годину ($273,33 \pm 0,67$ g) што је статистички значајно на нивоу од 1% (таб. 36).

Табела 36. НЗР тест аритметичких средина масе 1000 зрна кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	Р	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-0,409	-0,265	1,962	0,791	2,509
Р. Шанчеви - Србобран	6,812	5,836	1,962	< 0,0001**	
Србобран - Сомбор	-7,222	-4,677	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	34,584	29,628	1,962	< 0,0001**	2,048

Статистички значајне разлике варијанси приноса зрна по биљци између генотипова, локалитета, година и интеракција генотип-година утврђене су на нивоу значајности од 1% (таб. 37).

Табела 37. Анализа варијансе приноса зрна по биљци кукуруза

Извор варијабилности	Степени слободе	Сума квадрата	Средина квадрата	F	p
Модел	384	383617,806	999,005	6,544	< 0,0001**
Генотип	95	131415,189	1383,318	9,061	< 0,0001**
Локалитет	2	59429,025	29714,513	194,646	< 0,0001**
Година	1	132496,843	132496,843	867,925	< 0,0001**
Генотип*локалитет	190	33780,123	177,790	1,165	0,204
Генотип*година	95	26289,543	276,732	1,813	0,002**
Локалитет*година	1	207,084	207,084	1,357	0,247
Грешка	95	14502,640	152,659		
Укупно	479	398120,446			

Линије су у просеку биле значајно приносније у Сомбору ($107,96 \pm 1,09$ g) у односу на Србобран ($99,61 \pm 0,69$ g) и Римске Шанчеве ($97,95 \pm 0,69$ g), док се просечан принос зрна по биљки у Србобрану и Сомбору није статистички значајно разликовао. Година 2012. била је неповољнија за формирање приноса од претходне. Просечан принос зрна по биљци износио је $120,42 \pm 0,56$ g 2011. године, док је 2012. принос био значајно нижи, $83,27 \pm 0,79$ g (таб. 38.).

Табела 38. НЗР тест аритметичких средина приноса зрна по биљци кукуруза

Локалитети	Разлика	Стандард. разлика	Критична вредност	p	НЗР
Р. Шанчеви - Сомбор	-10.011	-7.785	1,962	< 0,0001**	2.089
Р. Шанчеви - Србобран	-1.663	-1.710	1,962	0.087	
Србобран - Сомбор	-8.349	-6.492	1,962	< 0,0001**	
2011 - 2012	37.151	38.216	1,962	< 0,0001**	1.706

Анализа варијансе указала је на постојање статистички значајних разлика у испитиваним особинама између проучаваних инбред линија. Значајан извор варијабилности особина били су и године, локалитети и интеракције између ових фактора, што указује на велики утицај еколошких чинилаца на стабилност особина. Код већине особина, после генотипова, године су биле извор варијабилности са највећом сумом квадрата. Статистички значајне разлике између година мерења утврђене су код свих особина, док су између локалитета разлике утврђене код већине, али не свих особина. На период између метличења и свилања и број редова зрна

локалитет није утицао у погледу значајних варирања. Велики утицај године на варирање особина међу генотиповима утврдили су D'Andrea et al. (2006) у чијем истраживању је овај чинилац онемогућио класификују инбред линије на основу њиховог учинка у условима смањене количине азота. Bello et al. (2012) су утврдили статистички значајне разлике између година за 10 агрономских особина кукуруза и значајне интеракције генотипа и године за тежину клипа и принос.

Испитиване инбред линије, део колекције гермплазме Института за ратарство и повртарство, обухватиле су велики део укупне варијабилности агрономски важних особина и показале су се погодним генетичким материјалом за асоцијативну анализу.

6.11 Корелације између мерених особина кукуруза

Коефицијенти корелације између проучаваних особина указују на неколико статистички значајних веза (таб. 39). Статистички значајна позитивна вредност коефицијента корелације установљена је између времена метличења и времена свилања ($r=0,937$), два физиолошки усклађена процеса. Позитивне вредности коефицијента корелације одређене су за висину биљке и висину биљке до примарног клипа ($r=0,788$), укупног броја листова и броја листова изнад примарног клипа ($r=0,693$), ширине клипа и броја редова зрна на клипу ($r=0,726$), и дужине клипа и броја зрна у реду клипа ($r=0,706$). Средње позитивне вредности коефицијента корелације израчунате су за број дана од сетве до метличења и број дана од метличења до свилања ($r=0,415$), указујући да је код касностасних генотипова појава свиле каснила услед подударња са периодом са већим температурама и недостатком земљишне и ваздушне влаге. Раностаснији генотипови били су нижи, што потврђују средње позитивне вредности коефицијената корелације између висине биљке до клипа и времена цветања ($r=0,469$; $0,462$) и значајне позитивне вредности коефицијената корелације између висине биљке и времена цветања мушке и женске цвасти ($r=0,269$; $0,264$). Осим што су ниже, раностасније линије имале су и мањи укупни број листова (средње позитивне вредности коефицијента корелација, $r=0,533$; $0,538$) и мањи број листова изнад клипа (позитивне вредности коефицијената корелације, $r=0,320$; $0,376$). Средње позитивне вредности коефицијената корелације одређене су и између укупног броја листа и висине биљке до клипа ($r=0,591$), укупног броја листа и пречника клипа ($r=0,443$), док је средња негативна вредност

коэффициента корелације утврђена између броја редова зрна и дужине клипа ($r=-0,412$). Мале статистички значајне позитивне вредности коефицијента корелације утврђене су између висине биљке и броја листова, дужине клипа и времена цветања, масе 1000 зрна и висине биљке, масе 1000 зрна и броја листова, а слабе негативне корелације одређене су између број зрна у реду и укупног броја листова, и масе 1000 зрна и броја редова зрна на клипу, а негативне између дужине и ширине клипа. Мале позитивне вредности коефицијента корелације утврђене су између приноса и висине биљке ($r=0,222$), висине биљке до примарног клипа ($r=0,211$), укупног броја листова ($r=0,207$), броја листова изнад клипа ($r=0,261$), пречника клипа ($r=0,291$) и броја зрна у реду клипа ($r=0,296$).

Табела 39. Пирсонов коефицијент и статистички значајне фенотипске корелације између особина инбред линија кукуруза

	D POLL	DSILK	ASI	PH	EH	LNAE	TLN	EL	ED	RN	KN	KW	YPP
D POLL	1	0,937	0,415	0,269	0,469	0,320	0,533	0,211	0,168	0,033	0,171	0,212	0,122
DSILK	< 0,0001	1	0,076	0,264	0,462	0,376	0,538	0,229	0,182	0,100	0,219	0,182	0,156
ASI	< 0,0001	0,460	1	0,096	0,169	-0,084	0,121	0,002	0,006	-0,161	-0,080	0,117	-0,054
PH	0,008	0,009	0,353	1	0,788	0,274	0,389	0,269	0,139	0,017	0,201	0,334	0,222
EH	< 0,0001	< 0,0001	0,099	< 0,0001	1	0,194	0,591	0,152	0,219	0,068	0,096	0,367	0,211
LNAE	0,002	0,000	0,417	0,007	0,058	1	0,693	-0,027	0,331	0,293	-0,090	0,244	0,261
TLN	< 0,0001	< 0,0001	0,242	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	1	-0,197	0,443	0,369	-0,209	0,321	0,207
EL	0,039	0,025	0,986	0,008	0,139	0,794	0,054	1	-0,397	-0,412	0,706	0,110	0,144
ED	0,102	0,076	0,952	0,177	0,032	0,001	< 0,0001	< 0,0001	1	0,726	-0,122	0,158	0,291
RN	0,748	0,332	0,118	0,868	0,511	0,004	0,000	< 0,0001	< 0,0001	1	-0,190	-0,341	0,187
KN	0,096	0,032	0,438	0,050	0,351	0,383	0,041	< 0,0001	0,237	0,064	1	-0,141	0,296
KW	0,038	0,076	0,256	0,001	0,000	0,017	0,001	0,284	0,125	0,001	0,170	1	0,153
YPP	0,236	0,130	0,601	0,052	0,039	0,010	0,043	0,161	0,004	0,067	0,003	0,137	1

D POLL - број дана од ницања до метличења, *DSILK* - број дана од ницања до свилања, *TLN* - укупан број листова, *LNAE* - број листова изнад клипа, *EL* - дужина клипа, *KN* - број зрна у реду клипа, *KW* - маса 1000 зрна, *YPP* - принос по биљци, *ASI* - број дана од метличења до свилања, *PH* - висина биљке, *ED* - пречник клипа, *EH* - висина биљке до вишег клипа, *RN* - број редова зрна на клипу

На основу значајности корелационих коефицијената између анализираних особина и поређењем добијених вредности са ранијим резултатима може се закључити да су метличење и свилање физиолошки и временски усклађени процеси, да је положај примарног клипа одређен висином биљке (Li et al. 2007a), да шири клипови имају више редова зрна (Frova et al. 1999, Guo et al. 2011), а дужи већи број зрна у реду (Li et al. 2007b, Yu et al. 2014) и да је број листова изнад примарног клипа у корелацији са укупним бројем листова (Zhang et al. 2010).

Код касностасних генотипова појава свиле је каснила у односу на појаву антера и полинацију највероватније услед подударанја са периодом са већим температурама и недостатком земљишне и ваздушне влаге. Раностаснији генотипови били су нижи и имали мањи број листова и краћи клип, што је у сагласности са ранијим налазима (Enoki et al. 2006).

Према морфологији клипа генотипови су се могли диференцирати на линије са ужим и дужим клиповима и линије са ширим и краћим клиповима. Негативне статистички значајне корелације између дужине клипа и пречника клипа добили су и Quijada et al. (2009), док су Yu et al. (2014) утврдили позитивне корелације између ових особина.

Већа фотосинтетичка површина имала је позитиван утицај на број зрна у реду клипа, пречник клипа, масу 1000 зрна и принос по биљци. Маса 1000 зрна била је у позитивној значајној корелацији са бројем листова и висином биљке, негативној и значајној корелацији са бројем редова зрна и у негативној, али не и значајној корелацији са бројем зрна у реду, што је у сагласности са ранијим резултатима (Uribebarrea et al. 2008, Trachsel et al. 2009, Choe and Rocheford 2012). Borrás and Otegui (2001) су дошли до закључка да је смањење масе зрна последица смањења стопе наливања зрна, а не скраћивања периода наливања зрна.

Приноснији генотипови били су виши, са више постављеним клипом, већом фотосинтетичком површином, бројем листова изнад примарног клипа, већим пречником клипа, већим бројем зрна у реду клипа и малим периодом од метличења до свилања. Позитивне корелације између приноса са једне стране и висине биљке (Messmer et al. 2009, Lima et al. 2006), висине клипа (Lima et al. 2006), броја листова, пречника клипа (Zheng et al. 2009) малим периодом од метличења до свилања са друге (Messmer et al. 2009), потврђују резултати других истраживања.

У погледу присуства корелација између приноса зрна по биљци и других особина, утврђене су и неке несагласности са резултатима других аутора. Rafiq et al. (2010) су пронашли високо значајне позитивне корелације између дужине клипа и приноса зрна по биљци, као и масе 1000 зрна и приноса по биљци инбред линија. Ross et al. (2006) су испитали фенотипске корелације између компонената приноса синтетичке популације *Iowa Long-Ear Synthetic* утврдивши да су принос по биљци и маса зрна у позитивној корелацији. Њихови резултати показују да се *QTL* за дужину клипа и *QTL* за принос зрна на хромозому 5 налазе у фази раздвајања, чиме се делимично може објаснити зашто се селекцијом на дугачак клип не постиже задовољавајући раст приноса. Pinnisch et al. (2012) су утврдили да дужина клипа више доприноси формирању приноса зрна, него маса 1000 зрна. У овом истраживању, везе између дужине клипа и приноса зрна по биљци, и масе 1000 зрна и приноса између испитиваних инбред линија биле су позитивне, али не статистички значајне ($r=0,144$). Одсуство значајних корелација може се објаснити веома неповољним временским условима у току опрашивања, оплодње и наливања зрна у току обе године испитивања, што је довело до мањег броја формираних зрна у реду клипа и појави лакшег или штуроог зрна у односу на потенцијално могућ број зрна у оптималним условима спољашње средине. Ову претпоставку потврђује утврђена позитивна статистички значајна корелација између броја зрна у реду клипа и приноса зрна ($r=0,296$) и мање варирање дужине клипа у односу на број зрна у реду. Клипови на којима су се зрна развила неуједначено, остављајући празна места у редовима клипа, утицали су на изостанак корелације између приноса и дужине клипа, која би била присутна у повољнијим условима. Истраживања Otegui and Bonhomme (1998) потврђују да еколошки услови који претходе свилању одређују могући број зрна који се може развити на клипу, али и да ефективни број формираних зрна зависи од услова након цветања и оплодње, као и од величине клипа и карактеристика генотипа.

6.12 Асоцијативна анализа генотипова кукуруза

Хипотеза о постојању статистички значајних веза између микросателитских локуса и испитаних агрономских особина проверена је асоцијативном анализом применом општег и мешовитог линеарног модела узимајући у обзир постојање

структуре популације. Применом општег и мешовитог линераног модела утврђене су везе између седам маркера и три особине које се односе на цветање кукуруза: за број дана између цветања мушке и женске цвасти, број дана од сетве до метличења и број дана од сетве до свилања (таб. 40). Мешовити линеарни модел утврдио је мањи број статистички значајних веза између ових особина и маркера за сваку испитивану средину у односу на општи модел. Маркер *umc1025* био је у статистички значајној вези са све три особине код оба модела, изузев за број дана између цветања мушке и женске цвасти кукуруза код мешовитог линераног модела. Код пет маркера је одређено постојање везе са бројем дана од сетве до метличења и бројем дана од сетве до свилања на два локалитета и у току две године код оба модела. За маркере *bnlg238* и *bnlg1525* откривене су статистички значајне везе само са бројем дана између цветања мушке и женске цвасти. Процент фенотипске варијабилности објашњене молекуларним маркерима кретао се од 9% до 15% за број дана између цветања мушке и женске цвасти кукуруза, од 8% до 15% за број дана од сетве до метличења и од 6% до 17% за број дана од сетве до свилања. Везе између маркера и особина утврђене су у најмање две средине, а најчешће (60% случајева) у све четири средине. Маркери *bnlg1237* и *bnlg162* су са бројем дана од сетве до метличења и бројем дана од сетве до свилања имали стабилне асоцијације за највећи број средина код оба примењена модела.

Табела 40. Везе између маркера и броја дана између цветања мушке и женске цвасти кукуруза (*ASI*), броја дана од сетве до метличења (*DPOLL*) и броја дана од сетве до свилања (*DSILK*)

Маркер	Локалитет	Год.	Хр.	GLM			MLM	
				F-M	p-adj-M	R ²	F-M	p-M
<u>ASI</u>								
bnlg238	Р. Шанчеви	2011	6	3,8621	1,6x10 ^{-4**}	13,4	2,2212	0,0205*
	Р. Шанчеви	2012	6	4,6346	1,4x10 ^{-5**}	14,2	2,6844	0,0067**
	Србобран	2011	6	4,7133	3,1x10 ^{-5**}	15,2	1,6865	0,0907
	Србобран	2012	6	4,0784	9,7x10 ^{-5**}	14,4	2,2286	0,0206*
bnlg1525	Р. Шанчеви	2011	9	2,534	0,0472*	10,7	1,4685	0,1531
	Србобран	2011	9	3,1512	0,0071**	12,5	2,5252	0,007**
umc1025	Р. Шанчеви	2012	3	3,5236	0,0352*	8,8	1,2590	0,2803
	Србобран	2011	3	3,7943	0,0111*	9,3	1,7655	0,1045
<u>DPOLL</u>								
bnlg1237	Р. Шанчеви	2011	5	4,8801	2,4x10 ^{-4**}	10,0	3,1569	0,0075**
	Р. Шанчеви	2012	5	4,6377	8,5x10 ^{-4**}	9,2	2,7212	0,018*
	Србобран	2011	5	4,2397	3,9x10 ^{-4**}	9,0	2,9616	0,0112*
	Србобран	2012	5	4,4183	0,0013**	8,2	2,5664	0,0327*
bnlg162	Р. Шанчеви	2011	8	5,0876	8,9x10 ^{-6**}	15,1	2,2762	0,0206*
	Р. Шанчеви	2012	8	4,4189	3,5x10 ^{-4**}	13,2	2,858	0,0042**

	Србобран	2011	8	3,739	5,5x10 ^{-5**}	12,3	2,5849	0,0088**
	Србобран	2012	8	4,4037	1,1x10 ^{-4**}	13,0	1,823	0,0764
bnlg1523	Р. Шанчеви	2011	3	4,3831	1,0x10 ^{-4**}	12,7	2,2273	0,0277*
	Р. Шанчеви	2012	3	4,8052	3,5x10 ^{-5**}	12,9	3,0329	0,0035**
	Србобран	2012	3	3,5364	9,7x10 ^{-4**}	11,2	1,6498	0,1151
dupssr23	Р. Шанчеви	2011	3	4,1239	0,0049**	13,2	2,3772	0,0156*
	Р. Шанчеви	2012	3	3,1387	0,02*	10,5	2,1867	0,0264*
	Србобран	2011	3	4,1239	0,0022**	10,9	1,5032	0,1526
	Србобран	2012	3	4,0769	0,0013**	12,3	1,5706	0,1307
umc1025	Р. Шанчеви	2011	3	4,3012	0,0009**	10,3	3,1691	0,0049**
	Р. Шанчеви	2012	3	4,9586	0,0045**	10,9	2,3415	0,0308*
	Србобран	2011	3	3,8388	0,015*	9,4	2,6635	0,0153*
	Србобран	2012	3	7,123	0,0009**	14,9	4,6774	1,9x10 ^{-4**}
<u>DSILK</u>								
bnlg1237	Р. Шанчеви	2011	5	4,8395	0,0009**	9,9	2,8609	0,0136*
	Р. Шанчеви	2012	5	3,6892	0,044*	7,8	2,2582	0,0449*
	Србобран	2011	5	3,7539	0,042*	8,2	2,2072	0,0496*
	Србобран	2012	5	4,614	0,0011**	8,5	3,2907	0,0092**
bnlg162	Р. Шанчеви	2011	8	5,7962	3,4x10 ^{-4**}	16,3	2,2947	0,0196*
	Р. Шанчеви	2012	8	4,9123	1,4x10 ^{-4**}	14,4	2,5064	0,011*
	Србобран	2011	8	6,3542	1,4x10 ^{-4**}	17,2	3,0238	0,0026**
	Србобран	2012	8	3,7584	5,5x10 ^{-4**}	11,8	2,5105	0,0137*
bnlg1523	Р. Шанчеви	2011	3	5,427	7,4x10 ^{-4**}	14,6	2,6309	0,0098**
	Р. Шанчеви	2012	3	4,9735	2,3x10 ^{-4**}	13,4	2,8781	0,0051**
	Србобран	2011	3	5,4451	3,5x10 ^{-5**}	14,6	2,6161	0,0102*
	Србобран	2012	3	3,9297	2,1x10 ^{-4**}	12,1	2,9128	0,0049**
dupssr23	Р. Шанчеви	2011	3	3,6993	0,0009**	12,2	2,0472	0,0382*
	Србобран	2011	3	4,0605	1,4x10 ^{-4**}	13,0	1,706	0,1407
umc1025	Р. Шанчеви	2011	3	2,8324	0,2847	8,5	2,1195	0,0497*
	Р. Шанчеви	2012	3	2,6385	0,3986	5,8	2,3939	0,0275*
	Србобран	2011	3	10,249	0,0001**	6,3	8,6119	6,6x10 ^{-4**}

Год. - година, Хр. - хромозом, *F-M* - *F* тест, *p-adj-M* - коригована вредност вероватноће која контролоше појаву лажно позитивних веза, *p-M* - вероватноћа да је нулта хипотеза тачна, *GLM* - општи линеарни модел, *MLM* - мешовити линеарни модел, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%

Три маркера су била у статистички значајној вези са висином биљке за већину средина код оба модела, док су четири маркера била у статистички значајној вези са висином биљке до највишег клипа за скоро све средине код линеарног и за поједине средине код мешовитог модела (таб. 41). Статистички значајне везе утврђене су између висине биљке до највишег клипа и маркера *umc1022* у свим срединама. Значајне везе између ове особине и два маркера, *umc1075* и *umc1221*, одређене су у свим срединама само код општег линеарног модела, док је маркер *bnlg238* формирао значајне везе са висином биљке до највишег клипа само у једној средини применом општег модела и у једној средини применом мешовитог модела. Само је један маркер (*umc1022*) био у статистички значајној и стабилној вези са обе особине. Везе овог маркера са висином биљке до највишег клипа остварене су у свим срединама

применом оба модела, док су везе маркера *umc1022* са висином биљке установљене у великом броју средина. Процент фенотипске варијабилности објашњене молекуларним маркерима кретао се од 7% до 10% за висину биљке и од 8% до 11% за висину биљке до највишег клипа.

Табела 41. Везе између маркера и висина биљке (*PH*) и висине клипа (*EH*) кукуруза

Маркер	Локалитет	Год.	Хр.	GLM			MLM	
				F-M	p-adj-M	R ²	F-M	p-M
PH								
umc1022	Р. Шанчеви	2011	4	3,6115	0,015*	7,8	2,7696	0,0163*
	Србобран	2011	4	3,2941	0,089	7,1	2,5863	0,0235*
	Сомбор	2011	4	3,5268	0,037*	7,9	2,7409	0,0176*
bnlg1520	Р. Шанчеви	2011	2	5,0821	0,001**	10,2	4,4029	6,2x10 ^{-4**}
	Р. Шанчеви	2012	2	2,8604	0,3187	8,9	2,4799	0,0291*
	Србобран	2011	2	5,1915	0,001**	10,4	4,2134	9x10 ^{-4**}
	Србобран	2012	2	3,8125	0,001**	8,6	2,8855	0,0133*
	Сомбор	2011	2	4,8924	0,001**	10,2	3,3689	0,005**
bnlg1792	Р. Шанчеви	2011	7	3,0047	0,004**	8,5	2,366	0,0292*
	Р. Шанчеви	2012	7	2,8359	0,003**	8,9	2,3338	0,0314*
	Србобран	2011	7	3,1608	0,003**	10,1	2,4455	0,0245*
	Сомбор	2011	7	2,5531	0,014*	8,3	2,124	0,0498*
EH								
umc1022	Р. Шанчеви	2011	4	4,7409	0,001**	9,8	3,1744	0,0072**
	Р. Шанчеви	2012	4	4,3609	0,001**	9,3	2,3798	0,0356*
	Србобран	2011	4	4,9723	0,001**	10,1	3,484	0,0039**
	Србобран	2012	4	3,4478	0,045*	7,9	2,7663	0,0168*
	Сомбор	2011	4	3,8078	0,021*	8,5	2,4844	0,0292*
umc1075	Р. Шанчеви	2011	8	7,4155	0,0011**	14,4	1,6192	0,1763
	Р. Шанчеви	2012	8	4,0275	0,0047**	15,1	1,2183	0,3089
	Србобран	2011	8	4,0174	0,0048**	15,0	1,9223	0,1135
	Србобран	2012	8	5,159	0,0076**	10,6	2,4918	0,0886
	Сомбор	2011	8	3,0585	0,0207*	12,1	3,7328	0,0278*
umc1221	Р. Шанчеви	2011	5	2,7521	0,0125*	9,2	1,34	0,2414
	Р. Шанчеви	2012	5	4,4581	0,0003**	10,7	1,8927	0,0806
	Србобран	2011	5	2,4234	0,0257*	8,4	1,365	0,2304
	Србобран	2012	5	3,8162	0,0012**	9,8	2,4957	0,0224*
	Сомбор	2011	5	2,2069	0,0417*	9,6	1,1101	0,3647
bnlg238	Р. Шанчеви	2011	6	2,7895	0,028*	10,8	1,7608	0,0744
	Сомбор	2011	6	2,7671	0,0529	9,4	2,0076	0,0384*

Год. - година, Хр. - хромозом, F-M - F тест, p-adj-M - коригована вредност вероватноће која контролоше појаву лажно позитивних веза, p-M - вероватноћа да је нулта хипотеза тачна, GLM - општи линеарни модел, MLM - мешовити линеарни модел, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%

Статистички значајне везе остварене су између укупног броја листова и четири маркера. Везе са два маркера (*dupsr23* и *umc1025*) су утврђене у две и више средина код оба модела, док су преостала два маркера били у вези са овом особиним у само једној испитиваној средини. За само један маркер (*bnlg1520*) су утврђене

стабилне везе са бројем листова изнад клипа у свим срединама применом општег линеарног модела и у две средине применом мешовитог модела. Процент фенотипске варијабилности укупног броја листова и броја листова изнад клипа који је објашњен маркерима кретао се од 6% до 11% (таб. 42).

Табела 42. Везе између маркера и укупног броја листова (*TLN*) и броја листова изнад клипа (*LNAE*) кукуруза

Маркер	Локалитет	Год.	Хр.	GLM			MLM	
				F-M	p-adj-M	R ²	F-M	p-M
<u>TLN</u>								
dupssr23	Р. Шанчеви	2011	3	4,1549	0,001**	11,0	2,5773	0,009**
	Р. Шанчеви	2012	3	3,3593	0,012*	8,8	1,7359	0,0859
	Србобран	2012	3	3,2643	0,003**	9,4	2,3666	0,0164*
umc1025	Р. Шанчеви	2012	3	3,2288	0,036*	6,3	2,1466	0,0469*
	Србобран	2011	3	3,8217	0,006**	9,0	3,2728	0,0039**
umc1221	Р. Шанчеви	2012	5	3,4791	0,017*	6,7	1,9344	0,0736
bnlg162	Србобран	2012	8	3,6727	0,001**	9,4	2,4233	0,0171*
<u>LNAE</u>								
bnlg1520	Р. Шанчеви	2011	2	3,7733	0,011*	7,2	2,0278	0,0702
	Р. Шанчеви	2012	2	3,2103	0,049*	6,4	2,3788	0,0357*
	Србобран	2011	2	3,7576	0,009**	7,3	2,6143	0,0222*
	Србобран	2012	2	3,1677	0,043*	6,8	2,0826	0,0637
	Сомбор	2011	2	3,8192	0,007**	6,8	1,9963	0,0752
bnlg1556	Р. Шанчеви	2011	1	2,7318	0,036*	8,6	1,4332	0,1801
bnlg162	Србобран	2012	8	3,7775	0,001**	10,9	2,8554	0,0057**
umc1022	Србобран	2012	4	3,4340	0,009**	7,3	0,8964	0,5133

Год. - година, Хр. - хромозом, F-M - F тест, p-adj-M - коригована вредност вероватноће која контролоше појаву лажно позитивних веза, p-M - вероватноћа да је нулта хипотеза тачна, GLM - општи линеарни модел, MLM - мешовити линеарни модел, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%

Статистички значајне везе утврђене су између пречника клипа и четири маркера. Везе између пречника клипа и два маркера су биле стабилне у више средина, док су везе са преостала два маркера утврђене само у две, односно једној средини. Мешовити линеарни модел утврдио је више средина у којима су постојале значајне везе између маркера и пречника клипа него општи линеарни модел. Фенотипска варијабилност ове особине објашњена је ефектом маркера са 3-7,5%. Значајне везе остварене су између броја редова зрна и два маркера, али је са само једним маркером утврђена стабилна веза у три средине применом оба модела. Утицај маркера на варирање фенотипских вредности броја редова зрна кретао се од 5% до 8%. Од пет маркера који су формирали асоцијације са дужином клипа, три маркера су са испитиваним својством остварили везе у најмање три средине одређене бар једним моделом. Процент фенотипске варијабилности дужине клипа објашњен

маркерима износио је 7-10%. Постојање статистички значајних веза утврђено је између броја зрна у реду клипа и пет маркера, али ове везе нису биле постојане у више од две средине, изузев за маркер *umc1025*. Ефекат маркера на фенотипску варијабилност броја зрна у реду имао је вредности од 5% до 8%. Статистички значајне и стабилне везе утврђене су између масе 1000 зрна и четири маркера у три и више средина. Процент фенотипске варијабилности овог својства објашњен маркерима износио је 11-22% (таб. 43).

Табела 43. Везе између маркера и пречника клипа (*ED*), броја редова зрна (*RN*), дужине клипа (*EL*), броја зрна у реду (*KN*) и масе 1000 зрна (*1000KW*) кукуруза

Маркер	Локалитет	Год.	Хр.	GLM			MLM	
				F-M	p-adj-M	R ²	F-M	p-M
<u>ED</u>								
umc1025	Р. Шанчеви	2011	3	3,0319	0,0769	5,6	2,3527	0,0301*
	Србобран	2011	3	4,0351	0,001**	5,8	3,0210	0,0069**
	Србобран	2012	3	3,1962	0,024*	7,1	2,6889	0,0146*
	Сомбор	2011	3	4,6654	0,001**	7,5	2,7502	0,0128*
phi083	Р. Шанчеви	2011	2	2,2709	0,0857	3,0	2,8827	0,0402*
	Србобран	2011	2	4,1255	0,0799	2,8	3,2041	0,0269*
	Србобран	2012	2	4,5123	0,035*	4,5	3,2012	0,0272*
	Сомбор	2011	2	4,9606	0,01**	3,9	3,6887	0,0149*
umc1221	Р. Шанчеви	2012	5	3,6284	0,012*	6,5	2,8092	0,0164*
	Србобран	2012	5	2,7478	0,1588	6,3	2,4784	0,0232*
bnlg1237	Србобран	2012	5	3,7507	0,036*	6,1	3,6887	0,0149*
<u>RN</u>								
umc1122	Р. Шанчеви	2011	1	4,0070	0,001**	7,9	2,5541	0,0065**
	Србобран	2011	1	4,1889	0,001**	7,7	2,8362	0,0027**
	Сомбор	2011	1	3,5488	0,001**	8,5	2,1604	0,0219*
bnlg2291	Србобран	2011	4	2,9266	0,027*	5,4	1,5894	0,1314
	Сомбор	2011	4	3,2511	0,01**	6,4	1,9477	0,057
<u>EL</u>								
bnlg1237	Р. Шанчеви	2011	5	5,3518	0,001**	8,0	5,7480	4,5x10 ^{-5**}
	Р. Шанчеви	2012	5	3,5714	0,0659	8,4	2,9641	0,0172*
	Србобран	2011	5	4,7365	0,001**	7,5	4,7429	3,1x10 ^{-4**}
	Србобран	2012	5	3,3309	0,1229	8,0	3,3310	0,0085**
	Сомбор	2011	5	4,3284	0,009**	6,8	5,0497	4,2x10 ^{-4**}
phi034	Р. Шанчеви	2011	7	3,4364	0,101	10,1	2,6084	0,0301*
	Србобран	2011	7	2,7363	0,569	7,4	2,3546	0,0468*
	Р. Шанчеви	2012	7	5,3382	0,001**	7,9	4,0706	0,0049**
bnlg162	Р. Шанчеви	2011	8	3,7215	0,001**	9,4	3,0071	0,0027**
	Србобран	2011	8	2,4666	0,2288	7,5	2,1768	0,027*
	Сомбор	2011	8	3,1348	0,019*	8,6	2,0503	0,0439*
phi027	Р. Шанчеви	2012	9	4,8697	0,006**	7,4	2,7601	0,0338*
umc2003	Р. Шанчеви	2012	10	4,0109	0,027*	6,6	1,5296	0,1912
	Сомбор	2011	10	2,4872	0,578	7,0	2,3794	0,0358*
<u>KN</u>								
phi034	Р. Шанчеви	2011	7	4,2522	0,004**	7,2	3,1876	0,0108*

	Р. Шанчеви	2012	7	3,2647	0,240	5,4	3,0532	0,022*
bnlg162	Р. Шанчеви	2012	8	2,8562	0,043*	6,0	2,4651	0,017*
	Србобран	2011	8	2,8055	0,045*	8,6	1,8395	0,0659
phi027	Р. Шанчеви	2011	9	4,7701	0,006**	6,6	3,5471	0,0099**
	Р. Шанчеви	2012	9	3,8486	0,054	6,4	4,1250	0,0045**
umc1025	Р. Шанчеви	2012	3	2,6369	0,2977	12,5	2,1801	0,0463*
	Србобран	2012	3	2,3335	0,571	14,0	2,3334	0,0318*
	Сомбор	2011	3	4,8332	0,001**	10,2	3,3239	0,0036**
umc1035	Србобран	2012	1	1,7929	0,680	15,4	1,8468	0,0307*
	Сомбор	2011	1	2,4408	0,009**	14,0	1,8054	0,0359*
<u>1000KW</u>								
umc1122	Р. Шанчеви	2011	1	2,9992	0,007**	22,1	2,1942	0,0194*
	Србобран	2011	1	3,0352	0,01**	21,4	2,6026	0,0055**
	Сомбор	2011	1	3,1203	0,006**	19,4	2,4494	0,0092**
umc1014	Р. Шанчеви	2011	6	3,6945	0,004**	14,4	1,8624	0,0857
	Р. Шанчеви	2012	6	4,1542	0,001**	19,0	2,1416	0,05*
	Србобран	2012	6	5,5804	0,001**	15,2	2,4499	0,0312*
	Сомбор	2011	6	3,8747	0,016*	11,4	2,1666	0,05*
bnlg1792	Р. Шанчеви	2011	7	3,4747	0,015*	14,0	2,8038	0,0112*
	Србобран	2011	7	3,3459	0,0519	14,5	2,5132	0,0211*
	Сомбор	2011	7	3,1662	0,0859	14,1	2,3768	0,0289*
bnlg162	Р. Шанчеви	2011	8	3,1170	0,021*	15,1	1,8251	0,0686
	Р. Шанчеви	2012	8	2,8570	0,0819	12,4	3,0909	0,0036**
	Сомбор	2011	8	2,6483	0,1588	18,2	2,0669	0,0421*

Год. - година, Хр. - хромозом, $F-M$ - F тест, p -adj- M - коригована вредност вероватноће која контролоше појаву лажно позитивних веза, p - M - вероватноћа да је нулта хипотеза тачна, GLM - општи линеарни модел, MLM - мешовити линеарни модел, * и ** - статистички значајне разлике у фреквенцијама на нивоу значајности од 5% и 1%

Статистички значајне везе утврђене су између приноса по биљци и седам маркера, али су само две везе, између овог својства и маркера *bnlg162* и *umc1025*, биле стабилне (таб. 44). Мешовити линеарни модел утврдио је више средина у којима су постојале значајне везе између маркера и приноса по биљци од општег линеарни модела. Процент фенотипске варијабилности објашњен коришћеним маркерима износио је 5-11%.

Табела 44. Везе између маркера и приноса по биљци (*YPP*) кукуруза

Маркер	Локалитет	Год.	Хр.	GLM			MLM	
				F-M	p-adj-M	R ²	F-M	p-M
bnlg162	Р. Шанчеви	2011	8	2,7737	0,025*	9,9	2,4582	0,0126*
	Р. Шанчеви	2012	8	2,8819	0,016*	10,9	2,3191	0,0241*
	Србобран	2011	8	2,302	0,1439	8,0	2,1004	0,0331*
	Сомбор	2011	8	2,8599	0,035*	9,3	1,5213	0,1544
umc1025	Р. Шанчеви	2011	3	2,4917	0,2368	6,5	2,2020	0,0418*
	Србобран	2012	3	2,3582	0,4515	6,4	2,3582	0,0301*
	Сомбор	2011	3	3,1501	0,04*	8,1	2,7472	0,0129*
umc1221	Србобран	2012	5	2,4736	0,3227	6,0	2,4736	0,0234*
	Сомбор	2011	5	3,1984	0,025*	8,2	1,5420	0,1646
bnlg238	Р. Шанчеви	2011	6	2,8046	0,0013**	10,8	2,2889	0,017*
phi027	Р. Шанчеви	2012	9	4,1332	0,009**	7,3	3,3932	0,0133*
phi034	Р. Шанчеви	2012	7	5,1794	0,001**	8,7	4,0844	0,0048**
bnlg1237	Сомбор	2011	5	3,1579	0,1109	4,7	2,3446	0,0481*

Год.-година, Хр.- хромозом, F-M - F тест, p-adj-M-коригована вредност вероватноће која контролоше појаву лажно позитивних веза, p-M-вероватноћа да је нулта хипотеза тачна, GLM-- општи линеарни модел, MLM- мешовити линеарни модел

Од укупно 36 анализираних маркера, за 21 је утврђено постојање статистички значајних веза са 13 фенотипских особина применом оба модела. Маркер *bnlg162* имао је значајне везе са осам особина, *umc1025* са седам, а *bnlg1237* са пет особина. Код једног маркера је утврђено постојање значајних веза са по четири особина, код пет маркера са по три особине, код четири маркера са по две особине, док је осам маркера било у статистички значајној вези са по једном особином. Општи линеарни модел утврдио је укупно већи број статистички значајних веза између испитиваних особина и маркера од мешовитог линеарног модела. На основу укупног броја веза маркер-својство добијених применом оба модела, издвојена су три маркера (*bnlg162*, *umc1025* и *bnlg1237*) који су имали највећи број стабилних веза (15, 14 и 12, редом) са већим бројем својстава (таб. 45).

Табела 45. Број статистички значајних веза између особина кукуруза и маркера применом општег и мешовитог линеарног модела

Маркер (Bin)	Особина	Број средина	Број средина са значајним везама		
			GLM	MLM	GLM \cap MLM
bnlg162 (8.05)	DPOLL	4	4	3	3
	DSILK	4	4	4	4
	TLN	5	1	1	1
	LNAE	5	1	1	1
	EL	5	2	3	2
	KN	5	2	1	1
	1000KW	5	1	2	1
	YPP	5	3	3	2
umc1025 (3.04)	ASI	4	2	0	0
	DPOLL	4	4	4	4
	DSILK	4	3	3	3
	TLN	5	2	2	2
	ED	5	3	4	3
	KN	5	1	3	1
	YPP	5	1	3	1
bnlg1237 (5.05-5.06)	DPOLL	4	4	4	4
	DSILK	4	4	4	4
	ED	5	1	1	1
	EL	5	3	5	3
	YPP	5	0	1	0
umc1221 (5.04)	EH	5	5	1	1
	TLN	5	1	0	0
	ED	5	1	2	1
	YPP	5	1	1	0
dupssr23 (3.06)	DPOLL	4	4	2	2
	DSILK	4	2	1	1
	TLN	5	3	2	2
umc1022 (4.01)	PH	5	3	3	3
	EH	5	5	5	5
	LNAE	5	1	0	0
bnlg238 (6.00)	ASI	4	4	3	3
	EH	5	1	1	0
	YPP	5	1	1	1
phi027 (9.03)	EL	5	1	1	1
	KN	5	1	2	1
	YPP	5	1	1	1
phi034 (7.02)	EL	5	1	3	1
	KN	5	1	2	1
	YPP	5	1	1	1
umc1122 (1.06-1.07)	RN	5	3	3	3
	1000KW	5	3	3	3
bnlg1520 (2.09)	PH	5	4	5	4
	LNAE	5	5	2	2
bnlg1523 (3.02-3.03)	DPOLL	4	3	2	2
	DSILK	4	4	4	4
bnlg1792 (7.02)	PH	5	4	4	4
	1000KW	5	1	3	1
bnlg1525 (9.07)	ASI	4	2	1	1
bnlg1556 (1.07)	LNAE	5	1	0	0

bnlg2291 (4.06)	RN	5	2	0	0
phi083 (2.04)	ED	5	2	4	2
umc1014 (6.04)	1000KW	5	4	3	3
umc1035 (1.06)	KN	5	1	2	1
umc1075 (8.01)	EH	5	5	1	1
umc2003 (10.04)	EL	5	1	1	0

DPOLL - број дана од ницања до метличења, *DSILK* - број дана од ницања до свилања, *TLN* - укупан број листова, *LNAE* - број листова изнад клипа, *EL* - дужина клипа, *KN* - број зрна у реду клипа, *1000KW* - маса 1000 зрна, *YPP* - принос по биљци, *ASI* - број дана од метличења до свилања, *PH* - висина биљке, *ED* - пречник клипа, *EH* - висина биљке до вишег клипа, *RN* - број редова зрна на клипу

Ефекат алела на својства са којима су маркери *bnlg162*, *umc1025* и *bnlg1237* имали статистички значајне везе применом мешовитог линераног модела, одређени су у програму *TASSEL* за све испитиване средине и представљени су у табелама 46, 47 и 48. Позитиван ефекат на принос по биљци имали су алели 214 бр и 256 бр маркера *bnlg162*. Алел 214 бр је имао позитиван ефекат на број дана од ницања до метличења, укупан број листова, број листова изнад клипа, дужину клипа и масу 1000 зрна, док је на број дана од ницања до свилања и број зрна у реду клипа у неким срединама имао позитиван ефекат, а у другим негативан. Алел 256 бр је имао позитиван ефекат на број дана од ницања до метличења, број дана од ницања до свилања и број зрна у реду клипа, негативан ефекат на укупан број листова, док је ефекат овог алела на дужину клипа, масу 1000 зрна и број листова изнад клипа варирао у зависности од године и локалитета (таб. 46).

Табела 46. Ефекти алела маркера *bnlg162* на фенотипске особине кукуруза

bnlg162	DPOLL	DSILK	LNAE	TLN	EL	KN	1000KW	YPP
[214, 214]	+	+/-	+	+	+	+/-	+	+
[220, 220]	-	-	-	+	-	+	+/-	-
[236, 236]	-	-	+	+	+/-	+/-	+	+/-
[238, 238]	+/-	+/-	-	+/-	+/-	-	+	-
[240, 240]	+	+/-	+	+	+	+/-	+	+/-
[242, 242]	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+/-	-
[246, 246]	-	-	+/-	+/-	+	+	+/-	+/-
[248, 248]	+/-	+	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+/-
[250, 250]	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-
[256, 256]	+	+	+/-	-	+/-	+	+/-	+
[260, 260]	+	+	+/-	-	+	+/-	-	-

DPOLL - број дана од ницања до метличења, *DSILK* - број дана од ницања до свилања, *LNAE* - број листова изнад клипа, *TLN* - укупан број листова, *EL* - дужина клипа, *KN* - број зрна у реду клипа, *1000KW* - маса 1000 зрна, *YPP* - принос по биљци

Алели 107 br, 111 br и 113 br маркера *umc1025* имали су позитиван ефекат на принос по биљци. Позитиван ефекат алела 107 br утврђен је и на дужину клипа, док се ефекат овог алела на број дана од ницања до метличења, број дана од ницања до свилања, укупан број листова и број зрна у реду клипа разликовао код средина. Алел 111 br је, осим на принос, имао позитиван утицај и на дужину клипа и и број зрна у реду клипа. Овај алел утицао је на смањење броја дана до метличења, имао је негативан ефекат на број дана од ницања до свилања, док је на укупан број листова у неким срединама имао позитиван, а у другим негативан ефекат (таб. 47).

Табела 47. Ефекти алела маркера *umc1025* на фенотипске особине кукуруза

<i>umc1025</i>	DPLL	DSILK	TLN	EL	KN	YPP
[101, 101]	+	+/-	+/-	-	+/-	-
[105, 105]	+	+	+	+/-	+/-	+/-
[107, 107]	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+
[109, 109]	+	+	+/-	-	-	-
[111, 111]	-	+/-	+/-	+	+	+
[113, 113]	+	+	+/-	+/-	+	+
[115, 115]	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-
[117, 117]	-	-	-	-	+/-	-

DPLL-број дана од ницања до метличења, DSILK-број дана од ницања до свилања, TLN - укупан број листова, EL - дужина клипа, KN - број зрна у реду клипа, YPP - принос по биљци

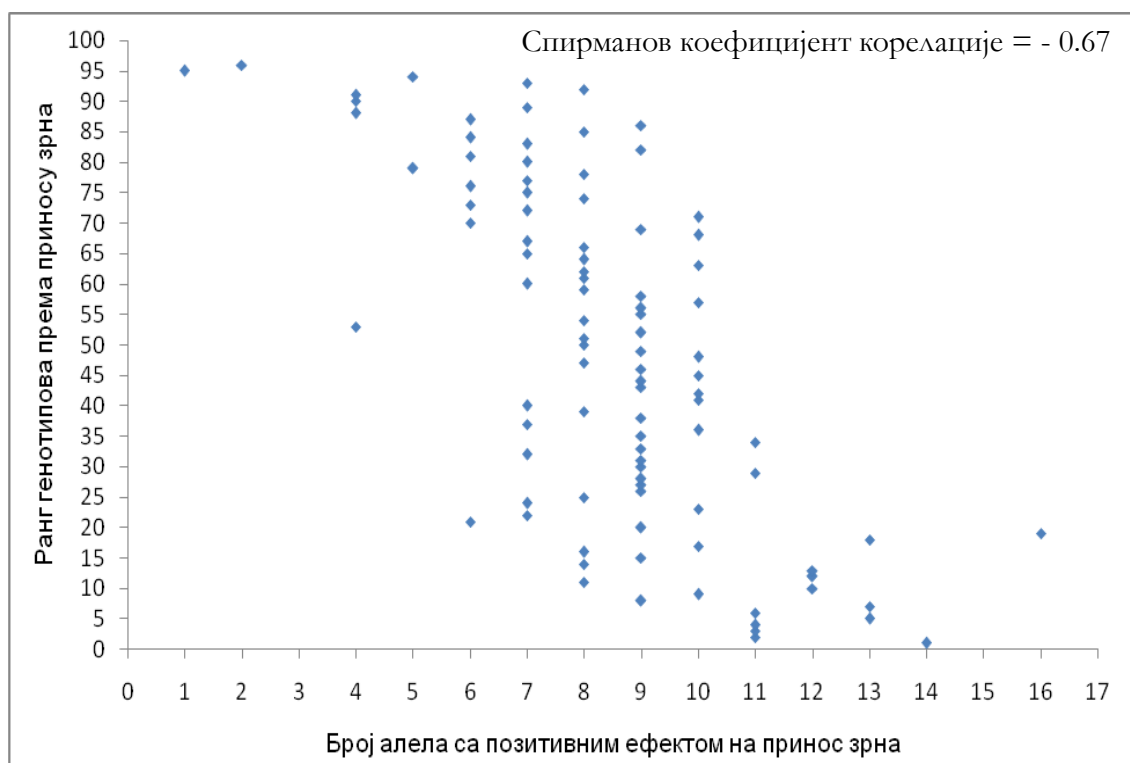
Позитиван ефекат на принос по биљци имали су алели 152 br, 154 br и 172 br маркера *bnlg1237*. Алел 152 br је имао позитиван ефекат и на број дана од ницања до свилања, а ефекти на остале особине зависили су од локалитета и године испитивања. Алел 154 br је испољио позитиван ефекат на све особине које су са маркером *bnlg1237* имале статистички значајне везе применом мешовитог модела, изузев дужине клипа. Алел 172 br је имао позитиван ефекат на све особине, осим на укупан број листова, где је ефекат овог варирао у зависности од средине (таб. 48).

Табела 48. Ефекти алела маркера *bnlg1237* на фенотипске особине кукуруза

<i>bnlg1237</i>	DPLL	DSILK	TLN	EL	YPP
[152, 152]	+/-	+	+/-	+/-	+
[154, 154]	+	+	+	+/-	+
[168, 168]	+	+	-	+	-
[170, 170]	+/-	+/-	+	-	+/-
[172, 172]	+	+	+/-	+	+
[180, 180]	+/-	+/-	-	-	-
[184, 184]	-	-	-	+/-	-

DPLL - број дана од ницања до метличења, DSILK - број дана од ницања до свилања, TLN - укупан број листова, EL - дужина клипа, YPP - принос по биљци

Укупан број позитивних алела на принос зрна по биљци утврђен је за свих 36 маркера, за сваки генотип. Седам маркера није имало алеле чији су ефекти на принос били позитивни у свим локалитетима и годинама испитивања. Утицај укупног броја позитивних алела у 29 локуса на рангирање генотипова према вредности приноса зрна утврђено је применом непараметријског теста. Генотипови који су више ранжирани по приносу имали су већи број алела са позитивним ефектом, при чему је Спирмановог коефицијент корелације био статистички значајан (за вредност двостраног теста $p=0,000$) и износио је $-0,67$ (граф 21). Негативна вредност Спирмановог коефицијент корелације резултат је начина обележавања ранжираних генотипова (од најбоље ранжираних са најмањим редним бројем до најгоре ранжираних са највећим редним бројем).



Графикон 21. Утицај броја позитивних алела са позитивном ефектом на принос на рангирање 96 генотипова кукуруза по приносу

Анализом обе хетеротичне групе засебно идентификовани су алели са позитивним ефектом на принос специфичних за одређену групу. Код *Lancaster* групе утврђено је 47 алела 26 маркера са позитивним ефектом на принос у свим локалитетима и годинама, док је код *BSSS* групе пронађено 17 алела 14 маркера (таб. 49). Четири алела са позитивним ефектом на принос присутна су у обе групе: алел

214 bp маркера *bnlg162*, алел 127 bp маркера *phi083*, алел 184 bp маркера *umc1035* и алел 104 bp *umc1083* маркера. Четвртина алела са позитивним ефектом на принос присутних у *Lancaster* групи и око 30% алела са позитивним ефектом на принос код *BSSS* групе су ретки алели.

Табела 49. Алели са позитивним ефектом на принос линија *Lancaster* и *BSSS* групе

Маркер	Алели са позитивним ефектом на принос у свим срединама	
	Lancaster	BSSS
bnlg1209	[164, 164], [174, 174]	-
bnlg1237	[152, 152], [154, 154], [172, 172]	-
bnlg125	[164, 164], [174, 174]	-
bnlg1520	-	[179, 179]
bnlg1523	[187, 187], [189, 189]	[229, 229]
bnlg1525	[164, 164], [174, 174], [176, 176]	-
bnlg1556	[150, 150], [180, 180], [184, 184]	-
bnlg162	[214, 214], [236, 236], [246, 246], [250, 250]	[214, 214], [256, 256]
bnlg1792	-	[139, 139]
bnlg2291	[172, 172], [194, 194]	[154, 154]
bnlg238	[135, 135]	-
bnlg666	[128, 128], [138, 138]	[126, 126]
dupssr10	[170, 170]	[164, 164]
dupssr23	[75, 75]	-
dupssr26	[112, 112], [114, 114]	-
phi059	-	[151, 151]
phi027	[146, 146]	-
phi034	[136, 136]	-
phi083	[127, 127]	[127, 127]
umc1014	[118, 118]	[114, 114], [140, 140]
umc1025	[107, 107], [111, 111], [113, 113]	-
umc1035	[126, 126], [146, 146], [184, 184]	[184, 184]
umc1075	[146, 146]	-
umc1083	[104, 104], [108, 108]	[104, 104], [122, 122]
umc1122	[151, 151]	-
umc1221	[77, 77]	[75, 75]
umc1360	[143, 143]	[140, 140]
umc1792	[116, 116], [125, 125]	-
umc2003	[79, 79]	-

Највећи број стабилних веза са већим бројем особина имао је маркер *bnlg162*. Овај маркер довођен је у везу са неколико агрономски значајних особина и у другим истраживањима. *QTL* мапирањем и укрштањем рекомбинантних инбред линија са три тестера утврђене су статистички значајне везе између маркера *bnlg162* и *QTL* за

висину биљке (Frascaroli et al. 2007, 2009). Већи позитиван ефекат на висину биљке имао је алел линије *B73*, а 9% фенотипске варијабилности објашњено је присуством *QTL* у близини маркера *bnlg162* након укрштања са тестером *H99*, односно 26% фенотипске варијабилности након укрштања са тестером *Mo17* (Frascaroli et al. 2009). Zhu et al. (2013) су утврдили негативан адитиван ефекат *QTL* између маркера *bnlg162* и *bnlg 2181* на број интернодија у две средине. Резултати ових истраживања у складу су са добијеним резултатима у овој дисертацији где су утврђене статистички значајне везе између *bnlg162* и укупног броја листова и броја листова изнад клипа. Ове две особине аналогне су укупном броју интернодија и броју интернодија изнад клипа и у корелацији су са висином биљке (Robertson 1994). Утврђене везе између *bnlg162* и броја дана од метличења и броја дана до свилања у складу је са резултатима Frascaroli et al. (2007) који су утврдили да *bnlg162* утиче на скраћивање периода између метличења и свилања, особине која указује на адаптабилност генотипа на сушне услове. Овај маркер је имао доминантни ефекат и објаснио је 6,7% фенотипске варијабилности рекомбинантних инбред линија након укрштања са тестером *H99*. Tuberosa et al. (2002) су утврдили да је маркер *bnlg162* најближи *QTL* са позитивном доминантним ефектом на дужину примарног корена. Позитивна веза између овог маркера и дужине, суве масе и броја коренова у условима суше утврђена је у истраживању Feng et al. (2013). Истовременом *QTL* анализом концентрације протеина и скроба, Li et al. (2009) су утврдили *QTL* који контролише ове особине у близини *bnlg162*, док су Wassom et al. (2008) утврдили да *QTL* окружен маркерима *bnlg162* и *bnlg1599* има позитиван ефекат на садржај уља и негативан на садржај скроба. Установљене су, такође, значајне везе између маркера *bnlg162* и отпорности према патогенима, попут *Bipolaris maydis* (Balint-Kurti et al. 2008) и вируса храпаве кржљавости кукуруза (Тао et al. 2013а).

Статистички значајне везе утврђене су између маркера *umc1025* и седам особина у више средина: број дана од ницања до метличења, број дана од ницања до свилања, број дана од метличења до свилања, укупан број листова, број зрна у реду клипа, пречник клипа и принос по биљци. Позитиван адитивни ефекат *QTL* на принос зрна у близини маркера *umc1025* утврђен је у три средине у истраживању Lima et al. (2006) и доминантан ефекат са 10% објашњене фенотипске варијабилности у истраживању Li et al. (2010b). У генском региону окруженим маркерима *umc1025* и *umc1742* детектован је *QTL* са већим ефектом на отпорност

према фузариозној трулежи клипа кукуруза којим се може објаснити 13-22% фенотипске варијабилности (Ding et al. 2008). Постојање везе овог маркера и отпорности према факторима биотичког стреса потврђено је мапирањем *umc1025* на хромозому 3 у непосредној близини гена *Scmv2* за отпорност према вирусу мозаика шећерне трске (Гао et al. 2013b).

Маркер *bnlg1237* за који су утврђене статистички значајне везе са бројем дана од ницања до метличења, бројем дана од ницања до свилања, дужином клипа, пречником клипа и приносом по биљци, у другим истраживањима доведен је у везу са *QTL* за масу 1000 зрна (Lu et al. 2006), *QTL* за дужину клипа (Ma et al. 2007), *QTL* за висину биљке (Tang et al. 2007) и *QTL* за квалитет зрна (Gutierrez-Rojas et al. 2010, Zhang et al. 2008, Chander 2008).

Већи број утврђених веза између различитих особина и једног маркера може бити резултат постојања једног *QTL* са плејотропним ефектом који се налази у близини тог маркера (Brescghello and Sorrells 2006) или већег броја *QTL* особених за одређено својство који су веома близу једни других, односно у гаметској неравнотежи. Маркери *bnlg1523* и *umc1025* за које је понаособ утврђено да се налазе у гаметској неравнотежи на хромозому 3 били су у статистички значајној вези са *QTL* који је утицао на време цветање. Такође, маркери *umc1221* и *bnlg1237* у гаметској неравнотежи на хромозому 5 доведени су у статистички значајну везу са *QTL* који је утицао на принос зрна. Иако су ови парови маркера у слабој корелацији ($r^2=0,09$ и $0,19$), гаметска неравнотежа је статистички значајна ($p<0.01$) и указује да је селекција на раностасност и родност могла да утиче на стварање структуре популације у овом генском региону. Ову претпоставку потврђује Mueller (2004) наводећи да на стварање гаметске неравнотеже два или више независних локуса утичу позитивна селекција, генетички дрифт или мешање популација са различитим гаметским фреквенцијама. Remington et al. (2001) су утврдили да је структура популације одраз утицаја селекције на адаптивне особине, као што је време цветања. У њиховом истраживању микросателитски маркери, за које је утврђено да су у статистички значајној вези са цветањем, дали су поуздану диференцијацију потпопулација, указујући да је адаптација кукуруза на специфичне регионе гајења (одређене дужине дана, надморске висине, суме температура) утицала на стварање локалне варијабилности у гермплазми кукуруза.

Одређени број утврђених појединачних статистички значајних веза које су непостојане у различитим срединама и мапирајућим популацијама могу бити последица епистазе, утицаја фактора спољне средине и њихове интеракција са генотипом. Ови чиниоци стабилности веза маркера и гена својствени су квантитативним особинама, контролисаних великим бројем гена. Иако су алели маркера у корелацији са алелима гена, при чему је корелација већа уколико су маркер и ген међусобно ближи, алели маркера не могу увек потпуно да предвиде преношење алела гена у генерације потомака у процесу оплемењивања. Из тог разлога потврда везе маркер-својство је неопходна на независном генетичком материјалу пре примене селекције помоћу маркера (Bresghello and Sorrells 2006).

Статистички значајне везе између маркера и особина, стабилне у више средина и постојане код различитих генотиповима, а које су, такође, потврђене у другим истраживањима указују на постојање генетичких фактора који контролишу сложене биохемијске, метаболичке и физиолошке процесе који позитивно утичу на фитнес и посредно на пожељне агрономске особине, а маркери имају велику могућност примене и значај у селекцији помоћу маркера (НАО et al. 2010) Утврђена веза између маркера *umc1221* и висине биљке до клипа потврђена је у истраживању Li et al. (2007a) на $F_{2,3}$ експерименталној популацији у две средине, објашњавајући 13,2% фенотипске варијабилности ефектом утврђеног *QTL*, а ефекат гена парцијалном доминацијом. Веза маркера *dupssr23* и времена цветања и број дана од метличења до свилања добијена је и у истраживањима Mu et al. (2009) и Huang et al. (2010). Истраживања указују да је маркер *dupssr23* био под јаком селекцијом у условима недостатка азота и налази се у близини ензима липоксигеназе, који се активира у условима стреса (Coque and Gallais 2006). Резултати других истраживања у сагласности су са утврђеним везама између маркера и анализираних агрономски значајних особина: *bnlg238* и *QTL* за принос зрна (Liu et al. 2008), *phi027* и *QTL* за дужину клипа (Ma et al. 2007), *phi027* и *QTL* за принос зрна (НАО et al. 2008), *phi034* и *QTL* за принос (Lima et al. 2006, Frascaroli et al. 2009), *umc1122* и *QTL* за број редова зрна на клипу (Yan et al. 2006b, Ma et al. 2007), *umc1122* и *QTL* за масу 1000 зрна (Xiao et al. 2005, Tang et al. 2010), *bnlg1523* и *QTL* за време цветања (НАО et al. 2008), *bnlg1792* и *QTL* за масу 1000 зрна (Yan et al. 2006a, 2006b), *bnlg1525* и *QTL* за време цветања (Zhang et al. 2011), *bnlg2291* и *QTL* за број редова зрна на клипу (Yan et al. 2006a),

umc1305 и *QTL* за број зрна у реду клипа (Coque and Gallais 2006, Frascaroli et al. 2009) и *umc1075* и *QTL* за висину биљке до клипа (Frascaroli et al. 2007).

Meta анализом већег броја истраживања са *QTL* мапирањем, одређени су тзв. консензус *QTL* региони који су на основу резултата више истраживања доведени у везу са експресијом одређене особине. Везе између микросателита и кандидат гена за толерантност на сушу утврђене су код: *dupsr10* и гена *mip1* (*Major intrinsic membrane protein1*) у хромозомском региону 5.04, *phi034* и гена *cyp6* (*Cytochrome P450*) у хромозомском региону 7.02, и маркера *phi027* и гена *wx1* (*Granule bound starch synthase/waxy1*) у хромозомском региону 9.03 (Hao et al. 2010). Такође, *phi083*, *umc1122*, *phi093* и *umc1014* су функционални маркери, налазе се унутар гена *prp2*, *bx1*, *ssu1* и *pl1* (*Maize Genetics and Genomics Database, www.maizegdb.org*), те су са њима у потпуној вези, која не може бити прекинута рекомбинацијом.

Код коришћених микросателитских маркера утврђени су алели са позитивним и негативним утицајем на својство у свим срединама, као и алели који су у неким срединама имали позитиван, а у другим негативан ефекат на фенотипске вредности. Различити ефекти алела на принос, компоненте приноса и време цветања су утврђени и у другим истраживањима (Buckler et al. 2009, Coles et al. 2010). Варирања ефеката алела маркера на фенотипску вредност испитиваних особина у различитим срединама указује не само на велики утицај чинилаца спољашње средине на варирање квантитативне особине и интеракције генотип - средина, већ и на значајне епистазе између алела *QTL* који контролишу дату квантитативну особину, као и њихове интеракције са генетичком основом одређеног генотипа, тј. са алелима других локуса. Позитиван ефекат већег броја алела на принос утврђен у више средина указује на значај већег броја *QTL* са малим појединачним ефектима у контроли квантитативних особина. То, такође, указује на неопходност примене великог броја маркера везаних за *QTL* за важна агрономска својства у МАС (Combs and Bernardo 2013, Bernardo 2013a, Bernardo 2013b, Albrecht et al. 2014).

Учинак инбред линија *per se* не може послужити као поуздан показатељ учинка њихових хибрида, због малих генотипских корелација. Због тога се положаји и ефекти *QTL* мапираних на линијама *per se* морају потврдити тестирањем општих и посебних комбинационих способности линија, због могућих доминантних или епистатичких интеракција између линија и тестера (Mihaljevic et al. 2005). Имајући то у виду, приликом избора маркера из литературе водило се рачуна да већина

фенотипских особина буде оцењена, односно да заједнички *QTL* за сваки маркер буду претходно идентификовани, и *per se* и у укрштањима са тестерима (Прилог, таб 50.). Пре примене маркера у селекцији инбред линија за хибридне комбинације, утврђене везе између маркера и особина асоцијативном анализом неопходно је потврдити на материјалу из укрштања инбред линија са тестерима различитих хетеротичних група.

Препорука је да се код линија у процесу инбридинга спроводи селекција на пожељне особине *per se*, а након постизања хомозиготног стања, да се одреде комбинационе способности инбред линија, односно њихова вредност у хибридним комбинацијама (Smith 1986). Резултати овог истраживања могу бити од велике користи у селекцији инбред линија које носе генетичке факторе, алеле, са позитивним ефектом на фитнес, принос и друге пожељне особина, а након потврде веза маркер-својство тестирањем комбинационих способности линија и при стварању хибрида.

7. ЗАКЉУЧАК

Велика полиморфност коришћених микросателитских маркера (297 алела, $N_a=8$, $PIC=0,40-0,85$) упућује на могућност њихове примене у карактеризацији генетичког материјала у оплемењивачким програмима и фингерпринтингу инбред линија и хибрида кукуруза.

Комбинација параметријског модела кластер анализе, непондерисаног метода груписања парова са аритметичком средином и анализе главних координата заснованих на молекуларним подацима даје јаснији увид у структуру популације инбред линија од примене појединачних метода.

Већа варијабилност унутар хетеротичних група (99% објашњене молекуларне варијансе) него између њих (1% објашњене молекуларне варијансе) указује на већи генетички диверзитет на нивоу гена него на нивоу популације.

Значајан извор варијабилности фенотипских особина биле су године, као и локалитети и интеракције између ових фактора ($p<0,0001$), што указује на велики утицај еколошких чинилаца на стабилност особина кукуруза.

Резултати кластер анализе молекуларних података били су у већој мери сагласни са педигреима линија и боље су груписали инбред линије у хетеротичне групе, него резултати засновани на фенотипским подацима.

Резултати анализе молекуларних (76% инбред линија са алелима јединственим алелима и просечно 2,5 јединствених алела за сваку инбред линију) и фенотипских података ($CV=4.7-36.8\%$) указују на велику варијабилност испитиваних генотипова, што их чини погодним за асоцијативну анализу.

Маркери који су имали статистички значајне везе са пожељним агрономским особинама (*bnlg162*, *umc1025* и *bnlg1237*), стабилним у више средина могли би имати велики значај у селекцији помоћу маркера.

Велики број утврђених алела са стабилним позитивним ефектима на принос (42 алела 26 маркера у *Lancaster* групи и 17 алела 14 маркера у *BSSS* групи) указује на улогу већег броја *QTL* са малим појединачним ефектима у контроли квантитативних особина и на важност примене већег броја маркера у селекцији помоћу маркера.

Резултати овог истраживања могу бити од користи у селекцији инбред линија које носе алеле са позитивним ефектом на фитнес, принос и друге пожељне

особине, а након потврде веза маркер-својство тестирањем комбинационих способности линија и при стварању хибрида.

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Abalo G, Edema R, Derera J, Tongoona P (2009) A comparative analysis of conventional and marker-assisted selection methods in breeding maize streak virus resistance in maize. *Crop Science* 49:509-520
2. Agarwal M, Shrivastava N, Padh H (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep* 27:617-631
3. Albrecht T, Auinger HJ, Wimmer V, Ogutu JO, Knaak C, Ouzunova M, Piepho HP, Schon CC (2014) Genome-based prediction of maize hybrid performance across genetic groups, testers, locations, and years. *Theoretical and Applied Genetics* 127(6):1375-1386
4. Ali ML, Taylor JH, Jie L, Sun G, William M, Kasha KJ, Reid LM, Pauls KP (2005) Molecular mapping of QTLs for resistance to *Gibberella* ear rot, in corn, caused by *Fusarium graminearum*. *Genome* 48(3):521-533
5. Almeida GD, Makumbi D, Magorokosho C, Nair S, Borem A, Ribaut J, Banziger M, Prasanna BM, Jose Crossa J, Babu R (2013) QTL mapping in three tropical maize populations reveals a set of constitutive and adaptive genomic regions for drought tolerance. *Theor Appl Genet* 126:583-600
6. Andersen JR, Schrag T, Melchinger AE, Zein I, Lubberstedt T (2005) Validation of Dwarf8 polymorphisms associated with flowering time in elite European inbred lines of maize (*Zea mays* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 111:206-217
7. Araus JL, Cairns JE (2014) Field high-throughput phenotyping: the new crop breeding frontier. *Trends in Plant Science* 19(1):52-61
8. Asea G, Vivek BS, Lipps PE, Pratt RC (2012) Genetic gain and cost efficiency of marker-assisted selection of maize for improved resistance to multiple foliar pathogens. *Molecular Breeding* 29(2):515-527
9. Austin DF, Lee M, Veldboom LR, Hallauer AR (2000) Genetic mapping in maize with hybrid progeny across testers and generations: grain yield and grain moisture. *Crop Science* 40(1):30-39
10. Babić M, Babić V, Prodanović S, Filipović M, Anđelković V (2012) Comparison of morphological and molecular genetic distances of maize inbreds. *Genetika* 44(1):119-128

11. Babić V, Babić M, Filipović M, Delić N, Anđelković V (2008) Phenotypic characterization and relatedness of maize inbred lines. *Genetika* 40(3):227-236
12. Babić V, Babić M, Filipović M, Delić N, Purar B (2011) Vizuelna ocena fenotipa po UPOV deskriptoru i srodnost linija kukuruza. *Ratar. Povrt.* 48:321-326
13. Balint-Kurti P, Blanco M, Milard M, Duvick S, Holland J, Clements M, Holley R, Carson ML and Goodman M (2006) Registration of 20 GEM maize breeding germplasm lines adapted to the southern U.S. *Crop Science.* 46 996–998
14. Balint-Kurti PJ, Zwonitzer JC, Pe ME, Pea G, Lee M, Cardinal AJ (2008) Identification of quantitative trait loci for resistance to southern leaf blight and days to anthesis in two maize recombinant inbred line populations. *Phytopathology* 98(3):315-320
15. Barata C, Carena MJ (2006) Classification of North Dakota maize inbred lines into heterotic groups based on molecular and testcross data. *Euphytica* 151:339-349
16. Barbaglia AM, Klusman KM, Higgins J, Shaw JR, Hannah LC, Lal SK (2012) Gene capture by Helitron transposons reshuffles the transcriptome of maize. *Genetics* 190(3):965-75
17. Barriere Y, Thomas J, Denoue D (2008) QTL mapping for lignin content, lignin monomeric composition, p-hydroxycinnamate content, and cell wall digestibility in the maize recombinant inbred line progeny F838× F286. *Plant Science* 175(4):585-595
18. Barriere Y, Mechin V, Lefevre B, Maltese S (2012) QTLs for agronomic and cell wall traits in a maize RIL progeny derived from a cross between an old Minnesota13 line and a modern Iodent line. *Theoretical and Applied Genetics* 125(3):531-54
19. Bekavac G, Purar B, Jocković Đ (2008) Relationships between line per se and testcross performance for agronomic traits in two broad-based populations of maize. *Euphytica* 162(3):363-369
20. Bello OB, Ige SA, Azeez MA, Afolabi MS, Abdulmalik SY, Mahamood J (2012) Heritability and genetic advance for grain yield and its component characters in maize (*Zea mays* L.). *International Journal of Plant Research* 2(5):138-145
21. Bennetzen JL, Ma J, Devos KM (2005) Mechanisms of Recent Genome Size Variation in Flowering Plants. *Annals of Botany* 95:127-132
22. Berger B, Parent B, Tester M (2010) High-throughput shoot imaging to study drought responses. *Journal of Experimental Botany*, erq201

23. Bernardo R (1994) Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids *Crop Science* 34(1):20-25
24. Bernardo R (2013a) Genomewide markers for controlling background variation in association mapping. *The Plant Genome* 6:1-9
25. Bernardo R (2013b) Genomewide markers as cofactors for precision mapping of quantitative trait loci. *Theoretical and Applied Genetics* 126:999–1009
26. Borrás L, Otegui ME (2001) Maize kernel weight response to postflowering source-sink ratio. *Crop Science* 41(6):1816-1822
27. Botstein D, White RL, Skalnick MH, Davies RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331
28. Bouchez A, Hospital F, Causse M, Gallais A, Charcosset A (2002) Marker-assisted introgression of favorable alleles at quantitative trait loci between maize elite lines. *Genetics* 162:1945–1959
29. Bradbury PJ, Zhang Z, Kroon DE, Casstevens TM, Ramdoss Y, Buckler ES (2007) TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics* 23:2633-2635
30. Breseghello F, Sorrells ME (2006) Association mapping of kernel size and milling quality in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Genetics* 172(2):1165-77
31. Brunner S, Pea G, Rafalski A (2005) Origins, genetic organization and transcription of a family of non-autonomous helitron elements in maize. *The Plant Journal* 43(6):799-810
32. Buckler ES, Gaut BS, McMullen M (2006) Molecular and functional diversity of maize. *Current Opinion in Plant Biology* 9:172-176
33. Buckler ES, Holland JB, Bradbury PJ, Acharya CB, Brown PJ, Browne C, Ersoz E, Flint-Garcia S, Garcia A, Glaubitz JC, Goodman MM, Harjes C, Guill K, Kroon DE, Larsson S., Lepak NK, L, H, Mitchell SE, Pressoir G, Peiffer JA, Oropeza Rosas M, Rocheford TR, Romay CM, Romero S, Salvo S, Sanchez VH, da Silva HS, Sun Q, Tian F, Upadaya N, Ware D, Yates H, Yu J, Zhang Z, Kresovich S, McMullen MD (2009) The Genetic Architecture of Maize Flowering Time. *Science* (325):714-718
34. Cai H, Chen F, Mi G, Zhang F, Maurer HP, Liu W, Reif JC, Yuan L (2012a) Mapping QTLs for root system architecture of maize (*Zea mays* L.) in the field at different developmental stages. *Theoretical and Applied Genetics* 125(6):1313-1324

35. Cai H, Chu Q, Yuan L, Liu J, Chen X, Chen F, Mi G, Zhang F (2012b) Identification of quantitative trait loci for leaf area and chlorophyll content in maize (*Zea mays* L.) under low nitrogen and low phosphorus supply. *Molecular Breeding* 30(1):251-266
36. Camus-Kulandaivelu L, Veyrieras J-B, Madur D, Combes V, Fourmann M, Barraud S, Dubreuil P, Gouesnard B, Manicacci D, Charcosset A (2006) Maize adaptation to temperate climate: relationship with population structure and polymorphism in the Dwarf8 gene. *Genetics* 172(4):2449-2463
37. Capelle V, Remoue C, Moreau L, Reyss A, Mahe A, Massonneau A, Falque M, Charcosset A, Thevenot C, Rogowsky P, Coursol S, Prioul JL (2010) QTLs and candidate genes for desiccation and abscisic acid content in maize kernels. *BMC Plant Biology* 10(1):2
38. Chaerle L, Leinonen I, Jones HG, van der Straeten D (2007) Monitoring and screening plant populations with combined thermal and chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Experimental Botany* 58(4):773-784
39. Chambers GK, MacAvoy ES (2000) Microsatellites: consensus and controversy. *Comp. Biochem. Physiol. B.* 126:455-476
40. Chander S, Guo YQ, Yang XH, Yan JB, Zhang YR, Song TM, Li JS (2008) Genetic dissection of tocopherol content and composition in maize grain using quantitative trait loci analysis and the candidate gene approach. *Molecular Breeding* 22(3):353-365
41. Chardon F, Virlon B, Moreau L, Falque M, Joets J, Decousset L, Murigneux A, Charcosset A (2004) Genetic architecture of flowering time in maize as inferred from quantitative trait loci meta-analysis and synteny conservation with the rice genome. *Genetics* 168(4):2169-2185
42. Ching A, Caldwell KS, Jung M, Dolan M, Smith OS, Tingey S, Morgante M, Rafalski AJ (2002) SNP frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines. *BMC Genetics* 3:19
43. Choe E, Rocheford T (2012) Genetic and QTL analysis of pericarp thickness and ear architecture traits of Korean waxy corn germplasm. *Euphytica* 183:243-260
44. CIMMYT (2009) Key access and utilization descriptors for maize genetic resources, Bioversity International; International Maize and Wheat Improvement Center
45. Clark RT, Famoso AN, Zhao K, Shaff JE, Craft EJ, Bustamante CD, Mccouch SR, Aneshansley DJ, Kochian LV (2013) High-throughput two-dimensional root system

- phenotyping platform facilitates genetic analysis of root growth and development. *Plant, Cell & Environment* 36(2):454-466
46. Coles ND, McMullen MD, Balint-Kurti PJ, Pratt RC, Holland JB (2010) Genetic control of photoperiod sensitivity in maize revealed by joint multiple population analysis. *Genetics* 184:799-812
 47. Collard BCY, Jahufer MZZ, Brouwer JB, Pang ECK (2005) An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. *Euphytica* 142:169-196
 48. Collins NC, Tardieu F, Tuberosa R (2008) Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiol* 147:469-486
 49. Combs E, Bernardo R (2013) Accuracy of genomewide selection for different traits with constant population size, heritability, and number of markers. *The Plant Genome* 6(1)
 50. Cook JP, McMullen MD, Holland JB, Tian F, Bradbury P, Ross-Ibarra J, Buckler ES, Flint-Garcia SA (2012) Genetic architecture of maize kernel composition in the nested association mapping and inbred association panels. *Plant Physiology* 158(2):824-834
 51. Cooper M, van Eeuwijk FA, Hammer GL, Podlich DW, Messina C (2009) Modeling QTL for complex traits: detection and context for plant breeding. *Current Opinion in Plant Biology* 12(2):231-240
 52. Coque M, Gallais A (2006) Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 112:1205-1220
 53. Coulon A, Fitzpatrick JW, Bowman R., Stith BM, Makarewich CA, Stenzler IM, Lovette IJ (2008) Congruent population structure inferred from dispersal behaviour and intensive genetic surveys of the threatened Florida scrub-jay (*Aphelocoma coerulescens*). *Molecular Ecology* 17:1685-1701
 54. D'Andrea, KE, Otegui ME, Cirilo AG, Eyherabide G (2006) Genotypic variability in morphological and physiological traits among maize inbred lines - Nitrogen responses. *Crop Science* 46(3):1266-1276
 55. Dekkers JCM, Hospital F (2002) The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. *Nat Genet Rev.* 3:22-32
 56. Ding JQ, Wang XM, Chander S, Yan JB, Li JS (2008) QTL mapping of resistance to Fusarium ear rot using a RIL population in maize. *Mol Breeding* 22:395-403

57. Dooner HK, He L (2008) Maize genome structure variation: Interplay between retrotransposon polymorphisms and genic recombination. *Plant Cell* 20:249-258
58. Dorweiler J, Stec A, Kermicle J, Doebley J (1993) Teosinte glume architecture 1: a genetic locus controlling a key step in maize evolution. *Science* 262:233-235
59. Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13-15
60. Dresselhaus T, Cordts S, Heuer S, Sauter M, Lorz H, Kranz E (1999) Novel ribosomal genes from maize are differentially expressed in the zygotic and somatic cell cycles. *Molecular and General Genetics* 261(2):416-427
61. Du C, Fefelova N, Caronna J, He L, Dooner HK (2009) The polychromatic Helitron landscape of the maize genome. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 106:19916-19921
62. Dubreuil P, Rebourg C, Merlino M, Charcosset A (1999) Evaluation of a DNA pooled-sampling strategy for estimating the RFLP diversity of maize populations. *Plant Molecular Biology Reporter* 17:123-138
63. Dubreuil P, Warburton M, Chastanet M, Hoisington D, Charcosset A (2006) More on the introduction of temperate maize into Europe: Large-scale bulk SSR genotyping and new historical elements. *Maydica* 51:281-291
64. Eathington SR, Crosbie TM, Edwards MD, Reiter RS, Bull JK (2007) Molecular markers in a commercial breeding program. *Crop Science* 47:154-163
65. East EM (1908) Inbreeding in corn. *Conn Agr Exp Sta Rpt* 1907:419-428
66. Edwards A, Civitello A, Hammond HA, Caskey CT (1991). DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats. *Am. J. Hum. Genet.* 49:746-756
67. Eichten SR, Briskine R, Song J, Li Q, Swanson-Wagner R, Hermanson PJ, Waters AJ, Starr E, West PT, Tiffin P, Myers CL, Vaughn MW, Springer NM (2013) Epigenetic and genetic influences on DNA methylation variation in maize populations. *Plant Cell* 25:2783-2797
68. Emrich SJ, Li L, Wen TJ, Yandea-Nelson MD, Fu Y, Guo L, Chou HH, Aluru S, Ashlock DA, Schnable PS (2007) Nearly Identical Paralogs: Implications for Maize (*Zea mays* L.) Genome Evolution. *Genetics* 175:429-439
69. Enoki H, Sato H, Koinuma K (2002) SSR analysis of genetic diversity among maize inbred lines adapted to cold regions of Japan *Theoretical and Applied Genetics* 104:1270-1277
70. Enoki H, Miki K, Koinuma K (2006) Mapping of quantitative trait loci associated with early flowering of a northern flint maize (*Zea mays* L.) inbred line. *Maydica* 51:515-523

71. Evans JD (1996) *Straightforward Statistics for the Behavioral Sciences*. Pacifics Grove. CA: Brooks/Cole Publishing
72. Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology* 14:2611-2620
73. Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10:564-567
74. Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data: Linked Loci and Correlated Allele Frequencies. *Genetics* 164:1567-1587
75. FAOSTAT (2012) [Online Database]. Rome, Italy. URL: <http://faostat3.fao.org>
76. Feng L, Sebastian S, Smith S, Cooper M (2006) Temporal trends in SSR allele frequencies associated with long-term selection for yield of maize. *Maydica* 51(2):293-300
77. Feng X, Li W, Feng Y, Hu W, Duan L, Zhang J, Zhang Z, Yue B (2013) Identification of significant loci for drought resistance and root traits at seedling stage with a set of maize introgression lines. *Maydica* 58:231-237
78. Field A (2005) *Discovering statistics using SPSS*. Second edition. Sage
79. Flint-Garcia SA, Thuillet AC, Yu J, Pressoir G, Romero SM, Mitchell SE, Doebley J, Kresovich S, Goodman MM, Buckler ES (2005) Maize association population: a high-resolution platform for quantitative trait locus dissection. *The Plant Journal* 44(6): 1054-1064
80. Fonseca AE, Lizaso JI, Westgate ME, Grass L, Dornbos DL (2004) Simulating Potential Kernel Production in Maize Hybrid Seed Fields. *Crop Science* 44:1696-1709
81. Frascaroli E, Cane MA, Landi P, Pea G, Gianfranceschi L, Villa M, Morgante M, Pe ME (2007) Classical Genetic and Quantitative Trait Loci Analyses of Heterosis in a Maize Hybrid Between Two Elite Inbred Lines. *Genetics* 176:625-644
82. Frascaroli E, Cane MA, Pe ME, Pea G, Morgante M, Landi P (2009) QTL detection in maize testcross progenies as affected by related and unrelated testers. *Theoretical and Applied Genetics* 118:993-1006

83. Frova C, Krajewski P, Di Fonzo N, Villa M, Sari-Gorla M (1999) Genetic analysis of drought tolerance in maize by molecular markers I. Yield components. *Theoretical and Applied Genetics* 99:280-288
84. Fu FL, Feng ZL, Gao SB, Zhou SF, Li WC (2008) Evaluation and quantitative inheritance of several drought-relative traits in maize. *Agricultural Sciences in China* 7(3):280-290
85. Fu H, Dooner HK (2002) Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 9573-9578
86. Gallavotti A, Zhao Q, Kyojuka J, Meeley RB, Ritter MK, Doebley JF, Pe ME, Schmidt RJ (2004) The role of barren stalk1 in the architecture of maize. *Nature* 432: 630-635
87. Gao L, Tang J, Li H, Jia J (2003) Analysis of microsatellites in major crops assessed by computational and experimental approaches. *Molecular Breeding* 12(3):245-261
88. Gerdes JT, Tracy WF (1993) Pedigree diversity within the Lancaster surecrop heterotic group of maize. *Crop Science* 33:334-337
89. Gethi JG, Labate JA, Lamkey KR, Smith ME, Kresovich S (2002) SSR variation in important U.S. maize inbred lines. *Crop Science* 42:951-957
90. Grift TE, Novais J, Bohn M (2011) High-throughput phenotyping technology for maize roots. *Biosystems Engineering* 110(1):40-48
91. Goodman MM (1990) Genetic and Germ Plasm Stocks Worth Conserving. *Journal of Heredity* 81(1):11-16
92. Goodman MM (2005) Broadening the U.S. maize germplasm base. *Maydica* 50:203-214
93. Gore MA, Chia JM, Elshire RJ, Sun Q, Ersoz ES, Hurwitz BL, Peiffer JA, McMullen MD, Grills GS, Ross-Ibarra J, Ware DH, Buckler ES (2009) A first-generation haplotype map of maize. *Science* 326:1115-1117
94. Gower JC (1966) Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika* 53:325-338
95. Guichoux E, Lagache L, Wagner S, Chaumeil P, Leger P, Lepais O, Lepoittevin C., Malausa T, Revardel E, Salin F, Petit RJ (2011) Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources* 11:591-611

96. Gunjaca J, Buhinicek I, Jukic M, Sarcevic H, Vragolovic A, Kozic Z, Jambrovic A, Pejic I (2008) Discriminating maize inbred lines using molecular and DUS data. *Euphytica* 161:165-172
97. Guo J, Chen Z, Liu Z, Wang B, Song W, Li W, Chen J, Dai J, Lai J (2011) Identification of genetic factors affecting plant density response through QTL mapping of yield component traits in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 182(3):409-422
98. Gupta PK, Rustgi S (2004) Molecular markers from the transcribed/expressed region of the genome in higher plants. *Functional and Integrative Genomics* 4(3):139-162
99. Gupta PK, Rustgi S, Kulwal PL (2005) Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Molecular Biology* 57(4):461–485
100. Gutierrez-Rojas A, Betran J, Scott MP, Atta H, Menz M (2010) Quantitative trait loci for endosperm modification and amino acid contents in quality protein maize. *Crop Science* 50(3):870-879
101. Haberer G, Young S, Bharti AK, Gundlach H, Raymond C, Fuks G, Butler E, Wing RA, Rounsley S, Birren B, Nusbaum C, Mayer KFX, Messing J (2005) Structure and Architecture of the Maize Genome. *Plant Physiology* 139:1612-1624
102. Hake S, Walbot V (1980) The genome of *Zea mays*, its organization and homology to related grasses. *Chromosoma* 79:251-270
103. Hallauer AR, Miranda Fo (1988) *Quantitative Genetics in Maize Breeding*. 2nd ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IA
104. Hao ZF, Li XH, Xie CX, Li MS, Zhang DG, Bai L, Zhang SH (2008) Two consensus quantitative trait loci clusters controlling anthesis-silking interval, ear setting and grain yield might be related with drought tolerance in maize. *Annals of Applied Biology* 153(1):73-83
105. Hao Z, Li X, Liu X, Xie C, Li M, Zhang D, Zhang S (2010) Meta-analysis of constitutive and adaptive QTL for drought tolerance in maize. *Euphytica* 174(2):165-177
106. Hansey CN, Vaillancourt B, Sekhon RS, de Leon N, Kaeppler SM, Buel CR (2012) Maize (*Zea mays* L.) Genome Diversity as Revealed by RNA-Sequencing. *PLoS ONE* 7(3): e33071. doi:10.1371/journal.pone.0033071
107. Heckenberger M, Bohn M, Klein A, Melchinger AE (2005) Identification of essentially derived varieties obtained from biparental crosses of homozygous lines: II.

- Morphological distances and heterosis in comparison with simple sequence repeat and amplified fragment length polymorphism data in maize. *Crop Science* 45:1132-1140
108. Hirschhorn JN, Daly MJ (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics* 6:95-108
 109. Huang YF, Madur D, Combes V, Ky CL, Coubriche D, Jamin P, Jouanne S, Dumas F, Bouty E, Bertin P, Charcosset A, Moreau L (2010) The genetic architecture of grain yield and related traits in *Zea mays* L. revealed by comparing intermated and conventional populations. *Genetics* 186(1):395-404
 110. Huson DH, Richter DC, Rausch C, DeZulian T, Franz M, Rupp R (2007) Dendroscope- An interactive viewer for large phylogenetic trees. *BMC Bioinformatics* 8:460
 111. IBPGR (1991) Descriptors for Maize. International Wheat and Maize Improvement Center, Mexico City/International Board for Plant Genetic Resources, Rome
 112. Jaenicke-Despres V, Buckler ES, Smith BD, Gilbert MTP, Cooper A, Doebley J, Paabo S (2003) Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. *Science* 302:1206-1208
 113. Jannink JL, Walsh B (2002) Association mapping in plant populations. In *Quantitative Genetics, Genomics and Plant Breeding*; Kang, M.S., Ed.; CAB International: New York, NY, USA, 59–68
 114. Jung M, Ching A, Bhatramakki D, Dolan M, Tingey S, Morgante M, Rafalski A (2004) Linkage disequilibrium and sequence diversity in a 500-kbp region around the *adh1* locus in elite maize germplasm. *Theor Appl Genet* 109:681-689
 115. Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK (2011) Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica* 177(3):309-334
 116. Kandianis CB, Stevens R, Liu W, Palacios N, Montgomery K, Pixley K, White WS, Rocheford T (2013) Genetic architecture controlling variation in grain carotenoid composition and concentrations in two maize populations. *Theoretical and Applied Genetics* 126(11):2879-2895
 117. Khan MK, Pandey A, Choudhary S, Hakki EE, Akkaya MS, Thomas G (2014) From RFLP to DArT: molecular tools for wheat (*Triticum* spp.) diversity analysis. *Genetic Resources and Crop Evolution* 61(5):1001-1032
 118. Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49(4):725-738

119. Kump KL, Bradbury PJ, Wissner RJ, Buckler ES, Belcher AR, Oropeza-Rosas MA, Zwonitzer JC, Holland JB (2011) Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics* 43(2):163-168
120. Labate JA, Lamkey KR, Lee M, Woodman W (2000) Hardy-Weinberg and linkage equilibrium estimates in the BSSS and BSCB1 random mated populations. *Maydica* 45:243-256
121. Labate JA, Lamkey KR, Mitchell SE, Kresovich S, Sullivan H, Smith JSC (2003) Molecular and historical aspects of corn belt dent diversity. *Crop Science* 43:80-91
122. Lauria M, Piccinini S, Pirona R, Lund G, Viotti A, Motto M (2014) Epigenetic Variation, Inheritance, and Parent-of-Origin Effects of Cytosine Methylation in Maize (*Zea mays*). *Genetics* 196(3):653-666
123. Lee EA, Tracy WF (2009) Modern Maize Breeding In: Handbook of maize. Genetics and Genomics Eds. Bennetzen J, Hake S. Springer Science + Business Media, LLC. 152-154
124. Leng ER, Tavčar A, Trifunović V (1962) Maize southeastern Europe and its potential value in breeding programs elsewhere. *Euphytica* 11:263-272
125. Li H, Freeling M, Lisch D (2010a) Epigenetic reprogramming during vegetative phase change in maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107:22184-22189
126. Li MS, Li XH, Salvi S, Tuberosa R, Yuan LX, Rotondo F, Bai L, Zhang SH (2006) Genetic relationships among CIMMYT subtropical QPM and Chinese maize inbred lines based on SSRs. *Maydica* 51:543-549
127. Li M, Guo X, Zhang M, Wang X, Zhang G, Tian Y, Wang Z (2010b) Mapping QTLs for grain yield and yield components under high and low phosphorus treatments in maize *Plant Science* 178:454-462
128. Li Y, Du J, Wang T, Shi Y, Song Y, Jia J (2002) Genetic diversity and relationships among Chinese maize inbred lines revealed by SSR markers. *Maydica* 47(2):93-102
129. Li YC, Korol AB, Fahima T, Nevo E (2004a) Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Mol Biol Evol* 21:991-1007
130. Li Y, Dong Y, Niu S, Cui D (2007a) The genetic relationship among plant-height traits found using multiple-trait QTL mapping of a dent corn and popcorn cross. *Genome* 50(4):357-64

131. Li YL, Niu SZ, Dong YB, Cui DQ, Wang YZ, Liu YY, Wei MG (2007b) Identification of trait-improving quantitative trait loci for grain yield components from a dent corn inbred line in an advanced backcross BC2F2 population and comparison with its F2:3 population in popcorn. *Theoretical and Applied Genetics* 115(1):129-140
132. Li Y, Wang Y, Wei M, Li X, Fu J (2009) QTL identification of grain protein concentration and its genetic correlation with starch concentration and grain weight using two populations in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Genetics* 88(1):61-67
133. Lima MLA, Souza CL, Bento DAV, Souza AP, Carlini-Garcia LA (2006) Mapping QTL for grain yield and plant traits in a tropical maize population, *Molecular Breeding*, 17:227-239
134. Liu J (2002) Powermarker—A Powerful Software for Marker Data Analysis. North Carolina State University Bioinformatics Research Center, Raleigh, NC (www.powermarker.net)
135. Liu K, Goodman M, Muse S, Smith JS, Buckler E, Doebley J (2003) Genetic Structure and Diversity Among Maize Inbred Line as Inferred From DNA Microsatellites. *Genetics* 165:2117-2128
136. Liu XH, Zheng ZP, Tan ZB, Li Z, He C (2010) Genetic analysis of two new quantitative trait loci for ear weight in maize inbred line Huangzao4. *Genetics and Molecular Research* 9(4):2140-2147
137. Liu Y, Subhash C, Yan J, Song C, Zhao J, Li J (2011) Maize leaf temperature responses to drought: thermal imaging and quantitative trait loci (QTL) mapping. *Environmental and Experimental Botany* 71(2):158-165
138. Liu Y, Wang L, Sun C, Zhang Z, Zheng Y, Qiu F (2014) Genetic analysis and major QTL detection for maize kernel size and weight in multi-environments. *Theor Appl Genet* 127:1019–1037
139. Liu ZH, Xie HL, Tian GW, Chen SJ, Wang CL, Hu YM, Tang, JH (2008) QTL mapping of nutrient components in maize kernels under low nitrogen conditions. *Plant Breeding* 127(3):279-285
140. Lootens P, Chaves B, Baert J, Pannecoucq J, Van Waes J, Roldan-Ruiz I (2013) Comparison of image analysis and direct measurement of UPOV taxonomic characteristics for variety discrimination as determined over five growing seasons, using industrial chicory as a model crop. *Euphytica* 189:329-341

141. Lu H, Bernardo R (2001) Molecular marker diversity among current and historical maize inbreds *Theoretical and Applied Genetics* 103:613-617
142. Lu H, Romero-Severson J, Bernardo R (2003) Genetic basis of heterosis explored by simple sequence repeat markers in a random-mated maize population. *Theoretical and Applied Genetics* 107(3):494-502
143. Lu H, Tang H, Yan B, Ma XQ, Li JS, Chen SJ, Ma JC, Liu ZX, E LZ, Zhang ZR, Dai JR (2006) Quantitative Trait Loci Mapping of Maize Yield and Its Components Under Different Water Treatments at Flowering Time. *Journal of Integrative Plant Biology* 48(10):1233–1243
144. Ma XQ, Tang JH , Teng WT, Yan JB, Meng YJ, Li JS (2007) Epistatic interaction is an important genetic basis of grain yield and its its components in maize. *Mol Breeding* 20:41-51
145. Marino R, Ponnaiah M, Krajewski P, Frova C, Gianfranceschi L, Pe ME, Sari-Gorla M (2009) Addressing drought tolerance in maize by transcriptional profiling and mapping. *Molecular Genetics and Genomics* 281(2):163-179
146. Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez J, Buckler E et al. (2002) A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:6080-6084
147. Maurer HP, Knaak C, Melchinger AE, Ouzunova M, Frisch M (2006) Linkage disequilibrium between SSR markers in six pools of elite lines of an European breeding program for hybrid maize. *Maydica* 51(2):269-279
148. McMullen MD, Kresovich S, Villeda HS, Bradbury P, Li H, Sun Q, Flint-Garcia S, Buckler ES (2009) Genetic properties of the maize nested association mapping population. *Science* 325(5941):737-740
149. Melchinger AE (1999) Genetic diversity and heterosis. In: Coors JG, Pandey S (ed) *The genetics and exploitation of heterosis in crops*. ASA, CSSA & SSSA, Madison, WI
150. Messing J, Bharti AK, Karlowski WM, Gundlach H, Kim HR, Yu Y, Wei F, Fuks G, Soderlund CA, Mayer KF, Wing RA (2004) Sequence composition and genome organization of maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:14349-14354
151. Messmer R, Fracheboud Y, Bänziger M, Vargas M, Stamp P, Ribaut JM (2009) Drought stress and tropical maize: QTL-by-environment interactions and stability of QTLs across environments for yield components and secondary traits. *Theoretical and Applied Genetics* 119(5):913-930

152. Metzgar D, Bytof J, Wills C (2000) Selection against frameshift mutations limits microsatellite expansion in coding DNA. *Genome Research* 10(1):72-80
153. Meuwissen THE, Hayes BJ, Goddard ME (2001) Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics* 157:1819–1829
154. Meyers B, Tingey S, Morgante M (2001) Abundance, Distribution, and Transcriptional Activity of Repetitive Elements in the Maize Genome. *Genome Research* 11:1660-1676
155. Mihaljevic RC, Schoon CC, Utz HF, Melchinger AE (2005) Correlation and QTL correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits in four populations of European maize. *Crop Science* 45:114-112
156. Mikel AM, Dudley JF (2006) Evolution of North American Dent Corn from Public to Proprietary Germplasm. *Crop Science* 46:1193-1205
157. Morgante M, Hanafey M, Powell W (2002) Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes. *Nat. Genet.* 30:194–200
158. Morgante M, Brunner S, Pea G, Fengler K, Zuccolo A, Rafalski A (2005) Gene duplication and exon shuffling by helitron-like transposons generate intraspecies diversity in maize. *Nat. Genet.* 37:997-1002
159. Moro GV, Santos MF, Bento DAV, Aguiar AM, de Souza CL (2012) Genetic analysis of kernel oil content in tropical maize with design III and QTL mapping. *Euphytica* 185(3):419-428
160. Mu G, Liang Y, Zhang Z, Wu Y, Liu S, Peng H, Zhang S, Pan G (2009) Mapping Quantitative Trait Loci Associated with Photoperiod Sensitivity in Maize (*Zea mays* L.) *Agricultural Sciences in China* 8(1):24-30
161. Mueller (2004) Linkage disequilibrium for different scales and applications. *Briefings in Bioinformatics* 5(4):355-364
162. Myles S, Peiffer J, Brown PJ, Ersoz ES, Zhang Z, Costich DE, Buckler ES (2009) Association Mapping: Critical Considerations Shift from Genotyping to Experimental Design. *The Plant Cell*. 21:2194-2202
163. Nei M, Roychoudhury AK (1974) Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics* 76:379-390
164. Nelson PT, Coles ND, Holland JB, Bubeck DM, Smith S, Goodman MM (2008) Molecular characterization of maize inbreds with expired US plant variety protection. *Crop Science* 48(5):1673-1685

165. Ortiz R, Crossa J, Franco J, Sevilla R, Burgueno J (2008) Classification of Peruvian highland maize races using plant traits. *Genetic Resources and Crop Evolution* 55(1):151-162
166. Otegui ME, Bonhomme R (1998) Grain yield components in maize: I. Ear growth and kernel set. *Field Crops Research* 56 (3):247-256
167. Park KJ, Sa KJ, Koh HJ, Lee JK (2013) QTL analysis for eating quality-related traits in an F2:3 population derived from waxy corn × sweet corn cross. *Breeding Science* 63(3):325-332
168. Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics* 28:2537-2539
169. Pinnisch R, Mowers R, Trumpy H, Walejko R, Bush D (2012) Evaluation of maize (*Zea mays* L) inbred lines for yield component traits and kernel morphology. *Maydica* 57:1-5
170. Poczai P, Varga I, Laos M, Cseh A, Bell N, Valkonen JP, Hyvönen J (2013) Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods* 9(1):6
171. Pritchard JK, Rosenberg NA (1999) Use of unlinked genetic markers to detect population stratification in association studies. *Am. J. Hum. Genet.* 65:220–28
172. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly PJ (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959
173. Pritchard JK, Wen X, Falush D (2007) Documentation for structure software: Version 2.2. <http://pritch.bsd.uchicago.edu/software/structure22/readme.pdf>
174. Qiu H, Liu C, Yu T, Mei X, Wang G, Wang J, Cai Y (2014) Identification of QTL for acid phosphatase activity in root and rhizosphere soil of maize under low phosphorus stress. *Euphytica* 197(1):133-143
175. Quijada P, Shannon LM, Glaubitz JC, Studer AJ, Doebley J (2009) Characterization of a major maize domestication QTL on the short arm of chromosome 1. *Maydica* 54(4):401-408
176. Радовић Г, Јеловац Д (1995) Генетички ресурси у оплемењивању кукуруза. 17-25. Оплемењивање, производња и искоришћавање кукуруза. 50 година Института за кукуруз Земун Поље. Београд
177. Rafalski A (2002) Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:94–100

178. Rafiq M, Rafique M, Hussain A, Altaf M (2010) Studies on the heritability, correlation and path analysis in maize (*Zea mays* L). *J Agric Res* 48:35-38
179. Rasmussen CC, Hallauer AR (2006) Evaluation of heterotic patterns of Iowa Stiff Stalk Synthetic and Non-Stiff Stalk Synthetic maize populations. *Maydica* 51:177-186
180. Rebourg C, Dubreuil P, Charcosset A (1999) Genetic diversity among maize populations: bulk RFLP analysis of 65 accessions. *Maydica* 44:237-249
181. Rebourg C, Chastanet M, Gouesnard B, Welcker C, Dubreuil P, Charcosset A (2003) Maize introduction into Europe: the history reviewed in the light of molecular data. *Theoretical and Applied Genetics* 106:895-903
182. Reid LM, Xiang K, Zhu X, Baum BR, Molnar SJ (2011) Genetic diversity analysis of 119 Canadian maize inbred lines based on pedigree and simple sequence repeat markers. *Can. J. Plant Sci.* 91:651-661
183. Reif JC, Melchinger AE, Xia XC, Warburton ML, Hoisington DA, Vasal SK, Beck D, Bohn M, Frisch M (2003a) Use of SSRs for establishing heterotic groups in subtropical maize. *Theor Appl Genet* 107:947-957
184. Reif JC, Melchinger AE, Xia XC, Warburton ML, Hoisington DA, Vasal SK, Srinivasan G, Bohn M, Frisch M (2003b) Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. *Crop Science* 43:1275-1282
185. Remington DL, Thornsberry JM, Matsuoka Y, Wilson LM, Whitt SR, Doebley J, Kresovich S, Goodman MM, Buckler ES (2001) Structure of linkage disequilibrium and phenotypic associations in the maize genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(20):11479-11484
186. Ribaut JM, Ragot M (2007) Marker-assisted selection to improve drought adaptation in maize: the backcross approach, perspectives, limitations, and alternatives. *Journal of Experimental Botany* 58:351-360
187. Robertson M (1994) Relationships between internode elongation, plant height and leaf appearance in maize. *Field Crops Research* 38(3):135-145
188. Romero-Severson J, Smith JSC, Ziegler J, Hauser J, Joe L, Hookstra G (2001) Pedigree analysis and haplotype sharing within diverse groups of *Zea mays* L. inbreds. *Theoretical and Applied Genetics* 103:567-574
189. Ross AJ, Hallauer AR, Lee M (2006) Genetic analysis of traits correlated with maize ear length. *Maydica* 51:301-313

190. Salhuana W, Pollak L (2006) Latin American maize project (LAMP) and germplasm enhancement of maize (GEM) project: Generating useful breeding germplasm. *Maydica* 51:339–355
191. Schnable J et al. (2009) The B73 Maize Genome: Complexity, Diversity, and Dynamics. *Science* 326(5956):1112-1115
192. Schnable J, Springer N, Freeling M (2011) Differentiation of the maize subgenomes by genome dominance and both ancient and ongoing gene loss. *P Natl Acad Sci USA* 108:4069-4074
193. Schulman AH (2007) Molecular markers to assess genetic diversity. *Euphytica* 158(3):313-321
194. Searle SR (1987) *Linear models for unbalanced data*. Wiley, New York
195. Semagn K, Magorokosho C, Bindiganavile VS, Makumbi D, Beyene Y, Mugo S, Prasanna BM, Warburton ML (2012) Molecular characterization of diverse CIMMYT maize inbred lines from eastern and southern Africa using single nucleotide polymorphic markers. *BMC Genomics* 13:113
196. Shannon CE, Weaver W (1949) *The Mathematical Theory of Communication*. Univ. Illinois Press, London and New York
197. Shull GF (1908) The composition of a yield of maize. *Rep Am Breed Assoc* 5:51-59
198. Sibov ST, de Souza JR, Lopes C, Garcia AA, Silva AR, Garcia A, Mangolin CA, Benchimol LL, de Souza AP (2003) Molecular mapping in tropical maize (*Zea mays* L.) using microsatellite markers. 2. Quantitative trait loci (QTL) for grain yield, plant height, ear height and grain moisture. *Hereditas* 139(2):107-115
199. Simons M, Saha R, Guillard L, Clement G, Armengaud P, Canas R, Maranas CD, Lea PJ, Hirel B (2014) Nitrogen-use efficiency in maize (*Zea mays* L.): from ‘omics’ studies to metabolic modelling. *Journal of Experimental Botany*, eru227
200. Smith JSC, Goodman MM, Stuber CW (1985) Genetic variability within U.S. maize germplasm: I Historically important lines. *Crop Science* 25:550-555
201. Smith JSC, Smith OS (1989) The description and assessment of distances between inbred lines of maize: I the use of morphological traits as descriptors. *Maydica* 34:141-150
202. Smith JSC, Chin ECL, Shu H, Smith OS, Wall SJ, Senior ML, Mitchell SE, Kresovich S, Ziegler J (1997): An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in

- maize (*Zea mays* L.): comparisons with data from RFLPS and pedigree. *Theor Appl Genet* 95:163-173
203. Smith OS (1986) Covariance between line per se and testcross performance. *Crop Science* 26(3):540-543
204. Snedecor GW, Cochran WG (1967) One-way classifications. *Analysis of variance. Statistical methods*:258-298
205. Sokal R, Michener C (1958) A statistical method for evaluating systematic relationships. *University of Kansas Science Bulletin* 38:1409-438
206. Song R, Messing J (2003) Gene expression of a gene family in maize based on noncollinear haplotypes. *P Natl Acad Sci USA* 100(15):9055-9060
207. Song XF, Song TM, Da, JR, Rocheford T, Li JS (2004) QTL mapping of kernel oil concentration with high-oil maize by SSR markers. *Maydica* 49:41-48
208. Springer N, Stupar R (2007) Allelic variation and heterosis in maize: How do two halves make more than a whole? *Genome Research*. 17:264-275
209. Sureshkumar S, Tamilkumar P, Senthil N, Nagarajan P, Thangavelu AU, Raveendran M, Vellaikumar S, Ganesan KN, Balagopal R, Vijayalakshmi G, Shobana V (2014) Marker assisted selection of low phytic acid trait in maize (*Zea mays* L.). *Hereditas* 151(1):20-27
210. Suteu D, Bacila I, Has V, Has I, Miclaus M (2014) Correction: Romanian Maize (*Zea mays*) Inbred Lines as a Source of Genetic Diversity in SE Europe, and Their Potential in Future Breeding Efforts. *PLoS ONE* 9(1):10.1371/annotation/85f0b730-b723-4d59-a653-d48b974c366c
211. Sozzani R, Busch W, Spalding EP, Benfey PN (2014) Advanced imaging techniques for the study of plant growth and development. *Trends in Plant Science* 19(5):304-310
212. Tabachnick BG, Fidell LS (2007) *Using multivariate statistics. Fifth Edition.* Pearson Education Inc.
213. Tang J, Teng W, Yan J, Ma X, Meng Y, Dai J, Li JS (2007) Genetic dissection of plant height by molecular markers using a population of recombinant inbred lines in maize. *Euphytica* 155:117-124
214. Tang J, Yan J, Ma X, Teng W, Wu W, Dai J, Dhillon BS, Melchinger A E, Li J (2010) Dissection of the genetic basis of heterosis in an elite maize hybrid by QTL mapping in an immortalized F2 population. *Theoretical and Applied Genetics* 120:333-342

215. Tao Y, Liu Q, Wang H, Zhang Y, Huang X, Wang B, Lai J, Ye J, Liu B, Xu M (2013a) Identification and fine-mapping of a QTL, qMrdd1, that confers recessive resistance to maize rough dwarf disease. *BMC Plant Biology* 13(1):145
216. Tao Y, Jiang L, Liu Q, Zhang Y, Zhang R, Ingvaridsen CR, Frei UK, Wang B, Lai J, Lübberstedt T, Xu M (2013b) Combined linkage and association mapping reveals candidates for Scmv1, a major locus involved in resistance to sugarcane mosaic virus (SCMV) in maize. *BMC Plant Biology* 13(1):162
217. Tarter JA, Goodman MM, Holland JB (2004) Recovery of exotic alleles in semiexotic maize inbreds derived from crosses between Latin American accessions and a temperate line. *Theor Appl Genet* 109:609-617
218. Tenaillon MI, Sawkins MC, Long AD, Gaut RL, Doebley JF, Gaut BS (2001) Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:9161-9166
219. Tenaillon MI, U'Ren J, Tenaillon O, Gaut BS (2004) Selection versus demography: a multilocus investigation of the domestication process in maize. *Mol Biol Evol* 21:1214-1225
220. The National Center for Biotechnology Information, NCBI, U.S. National Library of Medicine, Bethesda MD, USA, [Online Database]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
221. Thornsberry JM, Goodman MM, Doebley J, Kresovich S, Nielsen D (2001) Dwarf8 polymorphisms associate with variation in flowering time. *Nat. Genet.* 28:286-289
222. Tian F, Bradbury PJ, Brown PJ, Hung H, Sun Q, Flint-Garcia S, Rocheford TR, McMullen MD, Holland JB, Buckler ES (2011) Genome-wide association study of leaf architecture in the maize nested association mapping population. *Nature Genetics* 43(2):159-162
223. Trachsel S, Messmer R, Stamp P, Hund A (2009) Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. *Theoretical and Applied Genetics* 119:1413-1424
224. Trifunović V (1978) Maize production and maize breeding in Europe. *Maize breeding and genetics*. John Wiley and sons, New York 41-58
225. Troyer AF (1999) Background of U.S. Hybrid Corn. *Crop Science* 39:601-626
226. Tuberosa R, Sanguineti MC, Landi P, Giuliani MM, Salvi S, Conti S (2002) Identification of QTLs for root characteristics in maize grown in hydroponics and analysis of their overlap with QTLs for grain yield in the field at two water regimes. *Plant molecular biology* 48(5-6):697-712

227. Tuberosa R, Salvi S (2006) Genomics approaches to improve drought tolerance in crops. *Trends in Plant Sciences* 11:405-412
228. Upadaya N, Wassom J, Bohn MO, Rocheford TR (2006) Quantitative trait loci analysis of phenotypic traits and principal components of maize tassel inflorescence architecture. *Theor Appl Genet* 113(8):1395-1407
229. UPOV (2009) Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability; maize. TG/2/7. UPOV, Geneva, Switzerland
230. Uribe-Larrea M, Carcova J, Borrás L, Otegui ME (2008) Enhanced kernel set promoted by synchronous pollination determines a tradeoff between kernel number and kernel weight in temperate maize hybrids. *Field Crops Research* 105(3):172-181
231. USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. URL: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/index.pl>
232. van Inghelandt D, Melchinger AE, Lebreton C, Stich B (2010) Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theor Appl Genet* 120:1289-1299
233. van Heerwaarden J, Doebley J, Briggs WH, Glaubitz JC, Goodman MM, Sanchez Gonzalez J, Ross-Ibarra J (2011) Genetic signals of origin, spread, and introgression in a large sample of maize landraces. *P Natl Acad Sci USA* 108:1088-1092
234. van Heerwaarden J, Hufford MB, Ross-Ibarra J (2012) Historical genomics of North American maize. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109(31):12420-12425
235. Varshney RK, Graner A, Sorrells ME (2005) Genic microsatellite markers in plants: features and applications. *Trends in Biotechnology* 23(1):48-55
236. Vigouroux Y, Jaqueth JS, Matsuoka Y, Smith OS, Beavis WD, Smith JSC, Doebley J (2002) Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. *Molecular Biology and Evolution* 19(8):1251-1260
237. Vigouroux Y, Mitchell S, Matsuoka Y, Hamblin M, Kresovich S, Smith JSC, Jaqueth J, Smith OS, Doebley J (2005) An Analysis of Genetic Diversity Across the Maize Genome Using Microsatellites. *Genetics* 169:1617-1630

238. Vigouroux Y, Glaubitz JC, Matsuoka Y, Goodman MM, Sanchez JG, Doebley J (2008) Population structure and genetic diversity of new world maize races assessed by DNA microsatellites. *American Journal of Botany* 95(10):1240-1253
239. Visscher PM, Hill WG, Wray NR (2008) Heritability in the genomics era - concepts and misconceptions. *Nature Reviews Genetics* 9(4):255-266
240. Vroh Bi I, McMullen MD, Sanchez-Villeda H, Schroeder S, Gardiner J, Polacco M, Soderlund C, Wing R, Fang Z, Coe JEH (2005) Single nucleotide polymorphisms and insertion-deletions for genetic markers and anchoring the maize fingerprint contig physical map. *Crop Sci.* 46:12-21
241. Walbot V (2009) 10 Reasons to be Tantalized by the B73 Maize Genome. *PLoS Genetics* 5(11): e1000723. doi:10.1371/journal.pgen.1000723
242. Wang A, Li Y, Zhang C (2012a) QTL mapping for stay-green in maize (*Zea mays*) *Can. J. Plant Sci.* 92:249-256
243. Wang H, Nussbaum-Wagler T, Li B, Zhao Q, Vigouroux Y, Faller M, Bomblied K, Lukens L, Doebley JF (2005) The origin of the naked grains of maize. *Nature* 436: 714-719
244. Wang RL, Stec A, Hey J, Lukens L, Doebley J (1999) The limits of selection during maize domestication. *Nature* 398:236-139
245. Wang R, Yu Y, Zhao J, Shi Y, Song Y, Wang T, Li Y (2008) Population structure and linkage disequilibrium of a mini core set of maize inbred lines in China. *Theoretical and Applied Genetics* 117(7):1141-1153
246. Wang Z, Wang X, Zhang L, Liu X, Di H, Li T, Jin X (2012b) QTL underlying field grain drying rate after physiological maturity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 185:521-528
247. Warburton M, Hoisington D (2001) Applications of molecular marker techniques to the use of international germplasm collections. CABI Publishing: New York
248. Warburton ML, Xianchun X, Crossa J, Franco J, Melchinger AE, Frisch M, Bohn M, Hoisington D (2002). Genetic characterization of CIMMYT inbred maize lines and open pollinated populations using large scale fingerprinting methods. *Crop Science* 42(6):1832-1840
249. Wassom JJ, Wong JC, Martinez E, King JJ, DeBaene J, Hotchkiss JR, Mikkilineni V, Bohn M, Rocheford TR (2008) QTL associated with maize kernel oil, protein, and

- starch concentrations; kernel mass; and grain yield in Illinois high oil× B73 backcross-derived lines. *Crop Science* 48(1):243-252
250. Weir BS (1989) Sampling properties of gene diversity. In: *Plant Population Genetics, Breeding and Genetic Resources* Ed: Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL and Weir BS. Sinauer Associates, Sunderland, MA
251. Weir BS (1996) *Genetic Data Analysis II*. Sinauer, Sunderland, MA, US
252. Whitt SR, Wilson LM, Tenailon MI, Gaut BS, Buckler ES (2002) Genetic diversity and selection in the maize starch pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 99:12959-62
253. Willcox MC, Kairallah MM, Bergvinson D, Crossa J, Deutsch A, Edmeades GO, Gonzalez-De-Leon D, Jiang C, Jewell DC, Mihm AJ, Williams WP, Hoisington D (2002) Selection for resistance to southwestern corn borer using marker-assisted and conventional backcrossing. *Crop Science* 42:1516-1528
254. Willmot DB, Dudley JW, Rocheford TR, Bari AL (2006) Effect of random mating on Marker-QTL Associations for grain quality traits in the cross of Illinois High Oil X Illinois Low Oil. *Maydica* 51(2):187-199
255. Winterhalter L, Mistele B, Schmidhalter U (2013) Evaluation of active and passive sensor systems in the field to phenotype maize hybrids with high-throughput. *Field Crops Research* 154:236-245
256. Wong JC, Lambert RJ, Tadmor Y, Rocheford, TR (2003) QTL associated with accumulation of tocopherols in maize. *Crop Science* 43(6):2257-2266
257. Wright S (1978) *Evolution and the Genetics of Populations*, Vol. 4. University of Chicago Press, Chicago
258. Wright S, Bi I, Schroeder S, Yamasaki M, Doebley J, McMullen M, Gaut B (2005) The effects of artificial selection on the maize genome. *Science* 308:1310-1314
259. Xiao YN, Li XH, George ML, Li MS, Zhang SH, Zheng YL (2005) Quantitative Trait Locus Analysis of Drought Tolerance and Yield in Maize in China. *Plant Molecular Biology Reporter* 23:155-165
260. Yan J, Tang H, Huang Y, Zheng Y, Li J (2006a) Quantitative trait loci mapping and epistatic analysis for grain yield and yield components using molecular markers with an elite maize hybrid. *Euphytica* 149:121-131
261. Yan J, Tang H, Huang Y, Zheng Y, Subhash C, Li J (2006b) A genome scan for quantitative trait loci affecting grain yield and its components of maize both in single- and two-locus levels. *Chinese Science Bulletin* 51(12):1452-1461

262. Yan J, Shah T, Warburton ML, Buckler ES, McMullen MD, et al. (2009) Genetic Characterization and Linkage Disequilibrium Estimation of a Global Maize Collection Using SNP Markers. PLoS ONE 4(12): e8451. doi:10.1371/journal.pone.0008451
263. Yan J, Warburton M, Crouch J (2011) Association Mapping for Enhancing Maize (*Zea mays* L.) Genetic Improvement. Crop Science 51:433-449
264. Yang G, Li Y, Wang Q, Zhou Y, Zhou Q, Shen B, Zhang F, Liang X (2012) Detection and integration of quantitative trait loci for grain yield components and oil content in two connected recombinant inbred line populations of high-oil maize. Molecular Breeding 29(2):313-333
265. Yang L, Bennetzen JL (2009) Distribution, diversity, evolution, and survival of Helitrons in the maize genome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 106:19922-19927
266. Yang L, Wang W, Yang W, Wang M (2013) Marker-assisted selection for pyramiding the waxy and opaque-16 genes in maize using cross and backcross schemes. Molecular Breeding 31(4):767-775
267. Yang X, Yan J, Shah T, Warburton ML, Li Q, Li L, Gao Y, Chai Y, Fu Z, Zhou Y, Xu S, Bai G, Meng Y, Zheng Y, Li J (2010) Genetic analysis and characterization of a new maize association mapping panel for quantitative trait loci dissection. Theor Appl Genet 121:417-431
268. Yang X, Xu Y, Shah T, Li H, Han Z, Li J, Yan J (2011) Comparison of SSRs and SNPs in assessment of genetic relatedness in maize. Genetica 139:1045-1054
269. Yu J, Lu H, Bernardo R (2001) Inconsistency between SSR groupings and genetic background of white corn inbreds. Maydica 46:133-139
270. Yu J, Buckler E (2006) Genetic association mapping and genome organization of maize. Current Opinion in Biotechnology 17:155-160
271. Yu YT, Li GK, Yang ZL, Hu JG, Zheng JR, Qi XT (2014) Identification of a major quantitative trait locus for ear size induced by space flight in sweet corn. Genetics and Molecular Research 13(2):3069-3078
272. Zhang J, Lu XQ, Song XF, Yan JB, Song TM, Dai JR, Rocheford T, Li JS (2008) Mapping quantitative trait loci for oil, starch, and protein concentrations in grain with high-oil maize by SSR markers. Euphytica 162(3):335-344
273. Zhang T, Qian N, Zhu X, Chen H, Wang S, Mei H, Zhang Y (2013) Variations and Transmission of QTL Alleles for Yield and Fiber Qualities in Upland Cotton Cultivars Developed in China. PLoS ONE 8(2): e57220. doi:10.1371/journal.pone.0057220

274. Zhang X, Tang B, Liang W, Zheng Y, Qiu F (2011) Quantitative genetic analysis of flowering time, leaf number and photoperiod sensitivity in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Breeding and Crop Science* 3(9):168 -184
275. Zhang Y, Li YX, Wang Y, Liu ZZ, Liu C, Peng B, Tan WW, Wang D, Shi Y, Sun B, Song Y, Wang T, Li Y (2010) Stability of QTL across environments and QTL-by-environment interactions for plant and ear height in maize. *Agricultural Sciences in China* 9(10):1400-1412
276. Zheng HJ, Wu AZ, Zheng CC, Wang YF, Cai R, Shen XF, Xu RR, Liu P, Kong LJ, Dong ST (2009) QTL mapping of maize (*Zea mays* L.) stay-green traits and their relationship to yield. *Plant breeding* 128(1):54-62
277. Zheng ZP, Liu XH (2013) QTL identification of ear leaf morphometric traits under different nitrogen regimes in maize. *Genetics and Molecular Research* 12(4):4342-4351
278. Zheng ZP, Liu XH, Wu X, Zhang YS, He C (2013) Genetic loci mapping for ear axis weight using recombinant inbred line (RIL) population under different nitrogen regimes in maize. *African Journal of Biotechnology* 10(42):8255-8259
279. Zhou S, Wei F, Nguyen J, Bechner M, Potamouisis K, Goldstein S, Pape L, Schwartz DC (2009) A single molecule scaffold for the maize genome. *PLoS Genetics* 5(11): e1000711
280. Zhu C, Gore M, Buckler ES, Yu J (2008) Status and prospects of association mapping in plants. *Plant Genome* 1:5-20
281. Zhu LY, Chen JT, LI D, Zhang JH, Huang YQ, Zhao YF, Song ZQ, Liu ZZ (2013) QTL Mapping for Stalk Related Traits in Maize (*Zea mays* L.) Under Different Densities. *Journal of Integrative Agriculture* 12(2):218-228
282. Ziegler A, König IR, Thompson JR (2008) Biostatistical aspects of genome-wide association studies. *Biom J* 50:8-28
283. Živanović T, Branković G, Zorić M, Šurlan Momirović G, Janković S, Vasiljević S, Pavlov J (2012) Effect of recombination in the maize breeding population with exotic germplasm on the yield stability. *Euphytica* 185(3):407-417
284. Zondervan KT, Cardon LR (2004) The complex interplay among factors that influence allelic association. *Nature Reviews Genetics* 5(2):89-100

9. ПРИЛОГ

Табела 50. Преглед микросателитских маркера коришћених за мапирање *QTL* за важне агрономске особине

Маркер	Особина	Мапирајућа популација	Фенотипска оцена	LOD	R ² (%) ^a	Ефекат гена ^b	Херитабилност	Литературни извор
bnlg1209	ASI	234 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.4	11.5	A	-	Hao et al. 2008
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	5.0	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.2	9.5	Δ	0.75	Yan et al. 2006a
	Број редова зрна	294 RIL	<i>per se</i>	9.7	2.9	A	0.88	Ma et al. 2007
	Дужина зрна	270 F _{2:3}	<i>per se</i>	8.3	12.0	A	0.88	Liu et al. 2014
	Дужина интернодија	294 RIL	<i>per se</i>	4.5	6.0	A	0.93	Tang et al. 2007
	Дужина клипа	342 F ₂	<i>per se</i>	4.5	7.2	Δ Δ	-	Yu et al. 2014
	Отпорност на сушу	294 RIL	<i>per se</i>	4.6	9.5	A	0.61	Liu et al. 2011
	Принос	142 RIL	са тестерима	6.3	16.6	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	10.5	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
Садржај суве материје	163 RIL	са тестером	4.0	10.6	A	0.85	Barriere et al. 2012	
bnlg1237	Висина биљке	294 RIL	<i>per se</i>	3.9	8.6	A	0.93	Tang et al. 2007
	Дужина клипа	294 RIL	<i>per se</i>	2.5	0.7	A	0.85	Ma et al. 2007
	Маса 1000 зрна	294 RIL	<i>per se</i>	3.9	6.0	A	-	Lu et al. 2006
	Садржај уља	450 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.6	4.0	Δ Δ	0.57-0.63	Song et al. 2004
bnlg125	Број дана до свилања	142 RIL	са тестерима	4.2	7.7	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број клипова по биљци	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	-	2.3	СΔ	0.59	Lima et al. 2006
	Број редова зрна	284 и 265 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.7	8.0	Δ Δ	0.58	Li et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	6.0	3.4	A	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Висина биљке до клипа	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	-	6.1	СΔ	0.79	Lima et al. 2006
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	4.8	4.0	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	-	4.7	СΔ	0.75	Lima et al. 2006
bnlg1520	ASI	142 RIL	са тестерима	4.0	7.6	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	231 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.3	5.4	A	0.81-0.87	Guo et al. 2011
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	7.4	20.1	A	0.70-0.82	Frascaroli et al. 2009

	Маса зрна по клипу	142 RIL	<i>per se</i>	2.0	5.0	A	-	Marino et al. 2009
	Пречник клипа	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.4	8.7	Δ Δ	0.86-0.89	Li et al. 2010b
	Тежина клипа	142 RIL	<i>per se</i>	2.0	5.2	A	-	Marino et al. 2009
	Тежина клипа	239 RIL	<i>per se</i>	2.7	7.5	A	-	Liu et al. 2010
	Тежина клипа	239 RIL	<i>per se</i>	3.7	6.8	A	-	Zheng et al. 2013
bnlg1523	ASI	234 F _{2:3}	<i>per se</i>	2.7	5.3	CD	-	Hao et al. 2008
	Број зрна по клипу	234 F ₂	<i>per se</i>	3.0	5.5	Δ Δ	0.64-0.71	Xiao et al. 2005
	Вигор семена	203 RIL	<i>per se</i>	3.0	9.0	A	-	Yan et al. 2011
	Дужина клипа	441 IF ₂	<i>per se</i>	3.5	0.6	-	0.88	Tang et al. 2010
	Маса 1000 зрна	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	4.5	A	0.67	Yan et al. 2006a
	Пречник клипа	282 и 263 RIL	<i>per se</i>	3.3	6.0	A	0.73-0.87	Yang et al. 2012
bnlg1525	Број дана до метличења	232 F _{2:3}	<i>per se</i>	6.7	13.1	A	0.57-0.69	Zhang et al. 2011
	Број дана до свилања	232 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.3	10.6	A	0.52-0.75	Zhang et al. 2011
	Висина биљке	142 RIL	<i>per se</i>	2.0	1.5	A	-	Marino et al. 2009
	Висина биљке	259 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.0	6.2	Δ Δ	0.80	Li et al. 2007
	Дужина клипа	264 F _{2:3}	<i>per se</i>	2.9	4.9	-	0.64	Choe and Rocheford 2012
	Маса 1000 зрна	167 и 195 RIL	<i>per se</i> , са тестерима	3.6	10.2	A	0.68-0.85	Willmot et al. 2006
	Маса зрна по клипу	231 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.3	4.0	CD	0.89	Guo et al. 2011
	Отпорност на сушу	294 RIL	<i>per se</i>	3.2	6.2	A	0.61	Liu et al. 2011
	Принос	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.0	13.8	Δ Δ	0.62-0.68	Xiao et al. 2005
	Садржај воде у зрну	142 RIL	са тестерима	4.2	3.4	A	-	Frascaroli et al. 2007
bnlg1556	Stay green	189 F ₂	<i>per se</i>	4.0	9.3	Δ Δ	-	Wang et al. 2012a
	Број дана до метличења	232 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.5	8.6	A	0.57-0.69	Zhang et al. 2011
	Број дана до свилања	232 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.3	6.5	A	0.52-0.75	Zhang et al. 2011
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	9.7	CD	-	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.9	11.8	CD	0.75	Yan et al. 2006a
	Број редова зрна	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	7.5	9.7	CD	0.91	Yan et al. 2006a
	Висина биљке	294 RIL	<i>per se</i>	3.3	24.5	A	0.93	Tang et al. 2007
	Маса 1000 зрна	441 IF ₂	<i>per se</i>	5.2	1.8	-	0.87	Tang et al. 2010
	Принос	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	2.8	7.2	CD	0.75	Yan et al. 2006a

	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	8.1	CD	-	Frascaroli et al. 2007
	Садржај влаге у зрну	142 RIL	са тестерима	7.4	19.1	A	0.70-0.82	Frascaroli et al. 2009
	Садржај лигнина	242 RIL	<i>per se</i>	3.3	6.2	A	0.88	Barriere et al. 2008
bnlg162	ASI	142 RIL	са тестерима	4.2	6.7	CD	-	Frascaroli et al. 2007
	Отпорност на сушу	124 BC ₂ F ₅	<i>per se</i>	3.2	-	-	-	Feng et al. 2013
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.0	8.9	A	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	7.4-15.3	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Садржај влаге у зрну	142 RIL	са тестерима	4.2	1.1	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Садржај протеина, скроба	284 и 265 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.1	6.7-13.4	-	0.46/0.54	Li et al. 2009
bnlg1792	Број интернодија	294 RIL	<i>per se</i>	3.1	9.9	A	0.93	Tang et al. 2007
	Дужина клипа	284 и 265 F _{2:3}	<i>per se</i>	2.6	5.3	CD	0.30-0.56	Li et al. 2009
	Дужина клипа	294 RIL	<i>per se</i>	3.3	1.1	-	0.85	Ma et al. 2007
	Маса 1000 зрна	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.3	8.9	Δ Δ	0.67	Yan et al. 2006a
	Површина клипног листа	239 RIL	<i>per se</i>	4.2	14.8	A	0.96	Zheng and Liu 2013
bnlg2291	Број редова зрна	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.0	4.9	A	0.91	Yan et al. 2006a
	Висина биљке	236 RIL	<i>per se</i>	3.7	1.7-3.7	A	0.51-0.87	Messmer et al. 2009
	Дужина клипа	294 RIL	<i>per se</i>	7.4	8.7	A	-	Lu et al. 2006
	Принос	213 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.5	8.3	A	0.42-0.59	Liu et al. 2008
bnlg238	Број клипова по биљци	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	3.0	A	0.60	Lima et al. 2006
	Принос	213 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.6	10	Δ Δ	0.42-0.59	Liu et al. 2008
bnlg430	Број дана до метличења	142 RIL	<i>per se</i>	4.4	3.6	-	-	Marino et al. 2009
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	5.1	CD	-	Frascaroli et al. 2007
	Висина биљке до клипа	400 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	-	CD	0.67	Sibov et al. 2003
	Маса зрна по клипу	142 RIL	<i>per se</i>	2.9	2.3	-	-	Marino et al. 2009
	Површина листа	218 RIL	<i>per se</i>	5.0	10.6	A	0.35	Cai et al. 2012b
	Принос	142 RIL	са тестерима	6.3	16.6	CD	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Садржај влаге у зрну	142 RIL	са тестерима	4.2	4.4	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Сува маса корена	187 BC ₄ F ₃	<i>per se</i>	2.9	5.9	A	0.37	Cai et al. 2012a
bnlg666	ASI	142 RIL	са тестерима	4.2	6.7	CD	-	Frascaroli et al. 2007
	Број дана до метличења	142 RIL	са тестерима	11.1-15.2	22.7-25.5	A	0.62-0.78	Frascaroli et al. 2009

	Број дана до метличења	142 RIL	са тестерима	4.2	6.9-16.5	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	282 и 263 RIL	<i>per se</i>	3.2	4.4	-	0.65-0.67	Yang et al. 2012
	Број редова зрна	282 и 263 RIL	<i>per se</i>	4.8	3.8	-	0.56-0.67	Yang et al. 2012
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.0-6.6	8.9-26.0	Δ	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	5.0-10.3	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Дужина клупа	294 RIL	<i>per se</i>	14.9	4.5	Δ	0.85	Ma et al. 2007
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	4.2	6.6-8.1	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	142 RIL	са тестерима	2.3-8.9	3.6-8.3	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	3.8-19.6	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	282 и 263 RIL	<i>per se</i>	3.0	4.6	-	0.31-0.33	Yang et al. 2012
	Садржај воде у зрну	142 RIL	са тестерима	5.0	2.9	Δ	0.70-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Садржај воде у зрну	142 RIL	са тестерима	4.2	1.1	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
dupssr10	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	5.2	6.7	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Искоришћавање фосфора	180 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.4	6.8-7.9	СΔ	0.62	Qiu et al. 2014
	Принос	256 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	2.3	СΔ	0.75	Lima et al. 2006
	Принос	142 RIL	са тестерима	6.0-7.9	7.8-10.5	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	11.2	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Садржај токоферола	200 F _{2,3} ; 185 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	7.3; 3.7	10.9; 6.4	Δ	0.89; 0.76	Wong et al. 2003
	Садржај уља	250 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.5	3.2	Δ	0.89	Moro et al. 2012
	Тежина клупа	264 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.3	5.7	-	0.70	Choe and Rocheford 2012
	Тежина кочанке	264 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.3	7.5	-	0.72	Choe and Rocheford 2012
dupssr23	ASI	296 F _{2,3}	<i>per se</i>	6.6	13.5	Δ Δ	-	Mu et al. 2009
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	12.7	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број дана до свилања	300 F ₃ ; 322 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	3.4	3.4	Δ	0.84; 0.86	Huang et al. 2010
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	6.4	5.7	Δ	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	2.8	3.5-5.6	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Дубина зрна	264 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.4	7.4	-	0.38	Choe and Rocheford 2012
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	3.4-9.8	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
	Садржај уља	245 RIL	<i>per se</i>	-	13.2	Δ	0.92	Yang et al. 2010
dupssr26	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	6.4	11.8	Δ	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009

	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	5.7	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	5.2	13.7	Δ	0.70-0.85	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	5.5	6.4	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	2.7	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	351 F ₂ Syn3	<i>per se</i>	4.7	4.1	СΔ	0.89	Lu et al. 2003
	Садржај АВА	322 F _{3;4}	<i>per se</i>	4.5	13.1	А	-	Capelle et al. 2010
	Садржај токоферола	200 F _{2;3} ; 185 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	3.2-3.9	2.8-5.4	А	0.89; 0.76	Wong et al. 2003
phi027	Број дана до свилања	300 F ₃ ; 322 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	6.5	6.3	-	0.82-0.83	Huang et al. 2010
	Број клипа по биљци	234 F ₂	<i>per se</i>	3.6	6.6	СΔ	0.49	Xiao et al. 2005
	Дужина клипа	294 RIL	<i>per se</i>	6.1	1.7	А	0.85	Ma et al. 2007
	Отпорност на сушу	294 RIL	<i>per se</i>	3.6	9.0	А	0.61	Liu et al. 2011
	Принос	234 F _{2;3}	<i>per se</i>	3.6	7.5	СΔ	-	Hao et al. 2008
	Садржај амилозе	158 F ₂	<i>per se</i>	62.6	19.3	ΔΔ	-	Park et al. 2013
	Садржај воде у зрну	300 F ₃ ; 322 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	6.6	5.2	-	0.84; 0.86	Huang et al. 2010
phi034	Висина биљке	183 F _{2;3}	<i>per se</i>	2.7	11.2	ΔΔ	0.70	Fu et al. 2008
	Висина биљке до клипа	256 F _{2;3}	<i>per se</i>	3.4	1.0	СΔ	0.79	Lima et al. 2006
	Маса 1000 зрна	266 F _{2;3}	<i>per se</i>	5.3	8.9	ΔΔ	0.67	Yan et al. 2006a
	Маса 1000 зрна	266 F _{2;3}	<i>per se</i>	2.8	7.2	ΔΔ	0.67	Yan et al. 2006b
	Маса корена	183 F _{2;3}	<i>per se</i>	4.3	11.5	ΔΔ	0.35	Fu et al. 2008
	Принос	256 F _{2;3}	<i>per se</i>	3.0	1.8	ΔΔ	0.75	Lima et al. 2006
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.9	1.5	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Садржај каротеноида	103 и 227 F _{2;3}	<i>per se</i>	8.2	24.6	А	0.59	Kandianis et al. 2013
	Садржај токоферола	200 F _{2;3} ; 185 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	3.3	5.1	А	0.89; 0.76	Wong et al. 2003
phi053	Брзина отпуштања воде	280 RIL	<i>per se</i>	4.4	8.9	-	0.77	Wang et al. 2012b
	Број дана до метличења	236 RIL	<i>per se</i>	3.6	6.3	-	0.87	Messmer et al. 2009
	Број дана до метличења	232 F _{2;3}	<i>per se</i>	8.2	7.8	А	0.88	Zhang et al. 2011
	Висина биљке	351 F ₂ Syn3	<i>per se</i>	4.8	5.2	Δ	0.76	Lu et al. 2003
	Принос	351 F ₂ Syn3	<i>per se</i>	6.1	3.7	СΔ	0.89	Lu et al. 2003
	Садржај воде у зрну	351 F ₂ Syn3	<i>per se</i>	6.5	8.0	ΔΔ	0.91	Lu et al. 2003
	Садржај уља	245 RIL	<i>per se</i>	-	13.2	А	0.92	Yang et al. 2010

phi059	ASI	232 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.1	2.3	-	0.74	Zhang et al. 2011
	Број зрна у реду	210 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.6	10.1	Δ Δ	0.32-0.37	Li et al. 2010b
	Број листова испод клипа	232 F _{2,3}	<i>per se</i>	2.6	8.7	-	0.83	Zhang et al. 2011
	Дужина клипа	284 и 265 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.2	9.0	Δ	0.30-0.56	Li et al. 2009
	Принос	351 F ₂ Syn3	<i>per se</i>	3.4	3.1	СΔ	0.89	Lu et al. 2003
	Тврдоћа зрна	270 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.5	1.4	Δ	0.92	Liu et al. 2014
phi083	Број дана до метличења	232 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.2	0.7			Zhang et al. 2011
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	3.6	1.3	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2007
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.0	9.7	Δ Δ	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Време цветања	218 RIL	<i>per se</i>	3.7	7.6	Δ	0.91-0.94	Cai et al. 2012b
	Дужина листа	218 RIL	<i>per se</i>	9.6	20.9	Δ	0.39	Cai et al. 2012b
	Маса зрна по биљци	221 RIL	<i>per se</i>	3.2	6.1	Δ	-	Lu et al. 2006
	Маса клипа	142 RIL	<i>per se</i>	3.0	5.2	-	0.88	Frova et al. 1999
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.3	2.8	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2007
	Принос	194 F _{2,3} ; 186 RIL	са тестерима	-	-	-	0.61-0.84	Austin et al. 2000
Садржај хлорофила	218 RIL	<i>per se</i>	4.4	8.9	Δ	0.36-0.57	Cai et al. 2012b	
phi093	Број дана до метличења	142 RIL	са тестерима	4.2	3.1	СΔ	-	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	142 RIL	<i>per se</i>	3.0	6.1-12.5	-	0.89	Frova et al. 1999
	Број редова зрна	221 RIL	<i>per se</i>	4.9	7.2	Δ	-	Lu et al. 2006
	Број редова зрна	294 RIL	<i>per se</i>	5.9	1.9	Δ	0.88	Ma et al. 2007
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	3.4-7.2	7.8-14.7	Δ	0.70-0.85	Frascaroli et al. 2009
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	4.2	7.3-8.8	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Маса клипа	142 RIL	<i>per se</i>	3.0	6.5-7.0	-	0.88	Frova et al. 1999
	Садржај лигнина	242 RIL	<i>per se</i>	3.2	5.8	Δ	0.88	Barriere et al. 2008
umc1014	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	5.5	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2007
	Број зрна у реду	266 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.9	5.7	Δ	0.75	Yan et al. 2006b
	Број редова зрна	266 F _{2,3}	<i>per se</i>	5.8	8.1	Δ Δ	0.91	Yan et al. 2006a
	Број редова зрна	266 F _{2,3}	<i>per se</i>	4.3	9.0	Δ Δ	0.91	Yan et al. 2006b
	Садржај уља	282 и 263 RIL	<i>per se</i>	2.9	6.2	Δ	0.63-0.76	Yang et al. 2012
umc1025	Отпорност на <i>Fusarium</i>	187 RIL	<i>per se</i>	7.3-10.3	15.0-22.0	Δ	0.085-0.94	Ding et al. 2009

	Принос	256 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	3.0	A	0.75	Lima et al. 2006
	Принос	210 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.6	10.4	Δ	0.60-0.66	Li et al. 2010b
	Садржај каротеноида	103 и 227 F _{2,3}	<i>per se</i>	5.0	18.7	-	0.82	Kandianis et al. 2013
umc1035	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.1	6.2	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Број зрна по биљци	99RIL	са тестерима	4.6	19.5	-	-	Coque and Gallais 2006
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	7.4-9.7	CD	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2007
	Број интернодија	294 RIL	<i>per se</i>	3.6	7.4	-	0.93	Tang et al. 2007
	Број листова	294 RIL	<i>per se</i>	3.9	7.4	-	0.94	Tang et al. 2007
	Маса 1000 зрна	234 F ₂	<i>per se</i>	2.5	5.8	Δ Δ	0.63	Xiao et al. 2005
	Маса 1000 зрна	294 RIL	<i>per se</i>	2.2	2.5	-	0.85	Ma et al. 2007
	Маса 1000 зрна	99RIL	са тестерима	3.2	14.0	-	-	Coque and Gallais 2006
	Принос	142 RIL	са тестерима	3.5	5.0	Δ	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	3.1	CD	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2007
umc1075	Тврдоћа зрна	270 F _{2,3}	<i>per se</i>	5.5	5.5	Δ Δ	0.92	Liu et al. 2014
	ASI	296 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.9-5.6	5.7-6.9	Δ Δ	-	Mu et al. 2009
	Stay green	166 F _{2,3}	<i>per se</i>	2.9	7.4	A	-	Zheng et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	3.2-6.0	6.0-9.7	-	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	9.4	Δ Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	2.0-5.5	6.0-13.5	-	0.70-0.85	Frascaroli et al. 2009
	Маса 1000 зрна	167 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.5	7.7	A	-	Zheng et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	5.3	9.8	-	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
umc1083	Stay green	189 F ₂	<i>per se</i>	4.0	3.6	CD	-	Wang et al. 2012a
	Број дана до метличења	232 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.7	6.4	-	0.88	Zhang et al. 2011
	Маса зрна по биљци	284 и 265 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	6.3	Δ	0.27-0.33	Li et al. 2009
	Отпорност на Fusarium	144 RIL	<i>per se</i>	3.0	20.0	A	-	Ali et al. 2005
	Садржај каротеноида	103 и 227 F _{2,3}	<i>per se</i>	9.1	16.7	-	0.68	Kandianis et al. 2013
umc1109	Висина биљке до клиша	256 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	1.5	Δ	0.79	Lima et al. 2006
	Маса 1000 зрна	294 RIL	<i>per se</i>	3.1-3.4	5.9-6.5	A	-	Lu et al. 2006
	Полегање	256 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	5.0	CD	0.50	Lima et al. 2006
	Принос	256 F _{2,3}	<i>per se</i>	3.0	1.0	A	0.75	Lima et al. 2006

umc1122	ASI	236 RIL	<i>per se</i>	5	3.5	A	0.66-0.69	Messmer et al. 2009
	Број зрна у реду	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.5	12.9	CD	0.75	Yan et al. 2006b
	Број интернодија	294 RIL	<i>per se</i>	5.1	10.8	A	0.93	Tang et al. 2007
	Број листова	294 RIL	<i>per se</i>	4.6	8.1	-	0.94	Tang et al. 2007
	Број редова зрна	294 RIL	<i>per se</i>	9.1	2.7	A	0.88	Ma et al. 2007
	Број редова зрна	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.7	9.4	A	0.91	Yan et al. 2006b
	Висина од клипа	259 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.0	4.5	Δ	0.84	Li et al. 2007
	Дужина клипа	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	2.8	11.5	ΔΔ	0.64-0.66	Li et al. 2010b
	Маса 1000 зрна	234 F ₂	<i>per se</i>	3.8	4.4	ΔΔ	0.63	Xiao et al. 2005
	Маса 1000 зрна	441 IF ₂	<i>per se</i>	5.2	1.8	-	0.87	Tang et al. 2010
	Маса 1000 зрна	236 RIL	<i>per se</i>	3.8-5.0	3.5-4.9	A	0.67-0.76	Messmer et al. 2009
	Принос	266 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.9	9.2	CD	0.75	Yan et al. 2006b
	Садржај протеина	213 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.3	13.0	Δ	0.42-0.54	Liu et al. 2008
	Садржај скроба	213 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.2	13.6	ΔΔ	0.51-0.58	Liu et al. 2008
	Садржај уља	450 F _{2:3}	<i>per se</i>	18.5	15.9	A	0.57-0.63	Song et al. 2004
	Садржај хлорофила	236 RIL	<i>per se</i>	2.7	7.9	A	0.82	Trachsel et al. 2010
umc1221	Висина биљке	259 F _{2:3}	<i>per se</i>	5.3	7.6	ΔΔ	0.80	Li et al. 2007
	Висина биљке до клипа	259 F _{2:3}	<i>per se</i>	9.0	13.2	ΔΔ	0.70	Li et al. 2007
	Отпорност на Fusarium	144 RIL	<i>per se</i>	4.6	20.0	A	-	Ali et al. 2005
	Садржај АВА	322 F _{3:4}	<i>per se</i>	2.1	6.4	A	-	Capelle et al. 2010
	Садржај токоферола	200 F _{2:3} ; 185 TC	<i>per se</i> ; са тестерима	3.7	6.4	A	0.89; 0.76	Wong et al. 2003
umc1360	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	3.6	2.8	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Број зрна у реду	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.6	10.5	CD	0.32-0.37	Li et al. 2010b
	Висина биљке	259 F _{2:3}	<i>per se</i>	6.8	8.3	ΔΔ	0.80	Li et al. 2007
	Пречник клипа	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	10.6-13.0	CD	0.86-0.89	Li et al. 2010b
	Садржај протеина, скроба	284 и 265 F _{2:3}	<i>per se</i>	6.6	6.7-13.4	-	0.46/0.54	Li et al. 2009
	Садржај уља	298 F _{2:3}	<i>per se</i>	6.8	7.3	CD	0.82	Zhang et al. 2008
umc1792	Број зрна у реду	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.6	10.5	CD	0.32-0.37	Li et al. 2010b
	Број клипова по биљци	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	6.0	A	0.59	Lima et al. 2006
	Дужина клипа	441 IF ₂	<i>per se</i>	3.5	0.6	-	0.88	Tang et al. 2010

	Маса 1000 зрна	142 RIL	са тестерима	6.5	2.5	-	0.70-0.85	Frascaroli et al. 2009
	Маса 1000 зрна	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.5	10.5	СД	0.75	Li et al. 2010b
	Принос	256 F _{2:3}	<i>per se</i>	3.0	3.9	А	0.75	Lima et al. 2006
	Принос	210 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.8	10.2	СД	0.60-0.66	Li et al. 2010b
	Садржај влаге у зрну	142 RIL	са тестерима	4.2	4.7	А	-	Frascaroli et al. 2007
umc1944	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	5.6	3.3	-	0.63-0.92	Frascaroli et al. 2009
	Маса кочанке	234 F ₂	<i>per se</i>	2.6	4.1	А	0.64-0.71	Xiao et al. 2005
	Отпорност на <i>Fusarium</i>	144 RIL	<i>per se</i>	2.6	8.8	А	-	Ali et al. 2005
	Садржај каротеноида	103 и 227 F _{2:3}	<i>per se</i>	4.3	9.1	А	0.68	Kandianis et al. 2013
umc2003	ASI	142 RIL	<i>per se</i>	1.7	2.8	-	-	Marino et al. 2009
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	6.4	11.4	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	17.1	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2007
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	3.3-6.7	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	142 RIL	са тестерима	6.2	8.0	-	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	4.6-7.0	СД	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2007
	Тежина клипа	142 RIL	<i>per se</i>	2.0	6.5	А	-	Marino et al. 2009
umc2176	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	9.3	12	Δ	0.37-0.81	Frascaroli et al. 2009
	Број зрна по биљци	142 RIL	са тестерима	4.2	15.1	Δ	-	Frascaroli et al. 2007
	Висина биљке	142 RIL	са тестерима	4.2	4.9	СД	-	Frascaroli et al. 2007
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.8	5.0	-	0.46-0.84	Frascaroli et al. 2009
	Принос	294 RIL	<i>per se</i>	5.7	1.8	-	0.77	Ma et al. 2007
	Принос	142 RIL	са тестерима	4.2	13.1	СД	-	Frascaroli et al. 2007

^aR²-процент фенотипске варијабилности објашњене *QTL*, ^bА-адитивност; ΔΔ-делимична доминантност; Δ-доминантност; СД-супердоминантност

Биографија кандидата

Сања Микић (рођ. Трескић) је рођена 18.02.1979. у Новом Саду. Гимназију „Исидора Секулић“ завршила је 1998. године у Новом Саду. Дипломирала је 2004. године на Пољопривредном факултету у Новом Саду на Департману за заштиту биља и животне средине са просечном оценом 9,64. У току студија била је добитник награде студента генерације смера заштите биља (2001.) и стипендиста Хуманитарног фонда "Привредник", Владе Краљевине Норвешке (2001.) и Краљевског Дома Карађорђевић (2002/3.). Од марта до септембра 2006. волонтирала је у невладиној организацији *Pesticide Action Network UK* у Лондону. У току 2006. и 2007. године похађала је специјалистички курс из одрживе пољопривреде и руралног развоја на Медитеранском пољопривредном институту у Барију, Италији, који је завршила са наградом студента генерације. У периоду од септембра до децембра 2007. и од јуна до септембра 2008. волонтирала је на Департману за фитопатологију и микробиологију истраживачког центра *Rothamsted Research* у Харпендену, Енглеској. Од септембра 2008. године запослена је као истраживач приправник у Одељењу за кукуруз, Института за ратарство и повртарство у Новом Саду. Од јуна до новембра 2010. радила је у Огледној станици Србобран, а затим у Одељењу за стрна жита. Од априла 2012. ради у Одељењу за биотехнологију на пословима истраживача сарадника. Докторске академске студије, програм Ратарство и повртарство, уписала је 2008. године на Пољопривредном факултету, Универзитета у Београду. Положила је све испите предвиђене планом и програмом докторских студија са просечном оценом 10. Била је ангажована на пројекту Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије под називом „Стварање хибрида кукуруза толерантних према биотичким и абиотичким факторима стреса” (ГР 20101) од 2008. до 2010. године. Учесник је пројекта билатералне сарадње "Павле Савић" у оквиру научне и технолошке сарадње између Републике Србије и Републике Француске за период 2014-2015. Говори енглески језик. Аутор је и коаутор 34 научна рада.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Сања Микић (рођ. Трескић)

Број индекса или пријаве докторске дисертације 08/50

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Молекуларна и фенотипска карактеризација НС инбред линија кукуруза

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена докторска дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанда

У Београду, 15. 9. 2014.

Сања Микић

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Име и презиме аутора Сања Микић (рођ. Трескић)

Број индекса или пријаве докторске дисертације 08/50

Студијски програм Пољопривредне науке – ратарство и повртарство

Наслов докторске дисертације Молекуларна и фенотипска карактеризација НС
инбред линија кукуруза

Ментор проф. др Гордана Шурлан Момировић

Потписани/а Сања Микић

Изјављујем да је штампана верзија моје докторске дисертације истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис докторанда

У Београду, 15. 9. 2014.

Сања Микић

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

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

Молекуларна и фенотипска карактеризација НС инбред линија кукуруза

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на крају).

Потпис докторанда

У Београду, 15. 9. 2014.

Савка Мунти

1. Ауторство - Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.