



УНИВЕРЗИТЕТУ НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

В. Младенов, Ј. Боћански, Б. Бањац



ОПЛЕМЕЊИВАЊЕ БИЉАКА практикум

Велимир Младенов
Јан Боћански
Борислав Бањац



Едиција помоћни уџбеник

Оснивач и издавач едиције

Универзитет у Новом Саду

Пољопривредни факултет

Трг Доситеја Обрадовића 8, Нови Сад, Србија

Година оснивања

1954.

Главни и одговорни уредник едиције

др Недељко Тица, редовни професор

Декан Пољопривредног факултета у Новом Саду

Чланови комисије за издавачку делатност

др Љиљана Нешић, редовни професор – председник

др Милица Рајић, редовни професор – члан

др Нада Плавша, ванредни професор – члан

др Бранислав Влаховић, редовни професор – члан

Аутори:

др Велимир Младенов, доцент

др Јан Боћански, редовни професор

др Борислав Бањац, доцент

Главни и одговорни уредник едиције

др Недељко Тица, редовни професор

Декан Пољопривредног факултета у Новом Саду

Уредник

др Ђорђе Крстић, ванредни професор

Директор Департмана за ратарство и повртарство

Пољопривредни факултет у Новом Саду

Универзитет у Новом Саду

Рецензенти

др Славен Продановић, редовни професор

Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет

др Десимир Кнежевић, редовни професор

Универзитет у Приштини, Пољопривредни факултет у Лешку

Издавач

Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет

Забрањено прештампавање и фотокопирање. Сва права задржава издавач

Штампа:

Штампање одобрио:

Комисија за издавачку делатност Пољопривредног факултета у Новом Саду.

Тираж: 20 примерака

Фотографија на корицама: др Филип Франета

Место и година штампања: Нови Сад, 2021.

др Велимир Младенов

др Јан Боћански

др Борислав Бањац

ОПЛЕМЕЊИВАЊЕ БИЉАКА практикум

Нови Сад, 2021.

ПРЕДГОВОР

Практикум из оплемењивања биљака је намењен студентима ратарско повртарског смера који предмет *Оплемењивање биљака* слушају у трећој години студија и студентима органске пољопривреде који слушају предмет *Оплемењивање биљака и семенарство* у другој години. Већина поглавља омогућује стицање неопходних знања и за предмет *Генетика са оплемењивањем биљака* за смерове фитомедицина и агроекологија и заштита животне средине. Сва поглавља су повезана са знањем садржаја из предмета *Генетика*, које је студент требало да усвоји пре слушања курса оплемењивања биљака. Жеља аутора је била да, на студентима прилагођен начин, опише чар и лепоту оплемењивачког посла. Практикум је писан једноставним језиком, у складу са акредитованим планом и програмом предмета. Из поглавља у поглавље студенту се уводе нови термини и пред њих се постављају нови задаци. Практикум представља целину састављену од више поглавља чији садржаји се прожимају. Аутори виде практикум као складну целину, где се у првом поглављу најпре студент подсећа основа генетике и законитости на којима се темељи оплемењивање. Други део првог поглавља је посвећен начинима оплодње, без којих није могуће разумети оплемењивање биљака. Рад у пољу чини велик део оплемењивачевог укупног рада, те је стога друго поглавље посвећено методу и начинима постављања огледа. За било коју анализу пољопривредне вредности је неопходно имати добар основ, што је у агрономском случају добар оглед. Након квалитетно спроведеног огледа прикупљене податке је неопходно статистички обрадити. Поголавља три и четири су посвећена том делу агрономског и оплемењивачевог посла. Створити нови генотип је изузетно тежак и мукотрпан посао и знања у којој мери ће се нека особина пренети са родитеља на потомство се стичу у шестом поглављу. Пре укрштања је потребно поставити циљ оплемењивања. У зависности од различитих циљева, седмо поглавље нуди опције за најважније проблеме у агрономији за наш регион. Други део је посвећен објашњењу саме технике укрштања, што студенти Пољопривредног факултета у Новом Саду до сада нису имали прилике да прочитају у претходним публикацијама. Нове технике, које су данас у употреби у оплемењивању биљака нису од велике важности студентима основних студија, јер су њима потребна сазнања на којима ће даље развијати професију, док представљају изазов студентима другог и трећег степена образовања. Међутим, осмо поглавље је информативног карактера и представља само део техника које се користе у XXI-ом век.

Овај практикум не представља приручник за оплемењивање биљака, већ практикум за студенте. Он им служи да стекну увид у сложеност и лепоту оплемењивачког посла. Аутори нису желели да одступају од акредитованог плана и програма предмета и да пишу о најновијим сазнањима из струке, јер тиме не би раздвојили основ од онога што следи после - темељ од крова.

Посебну захвалност дугујемо рецензентима, проф. др Десириу Кнежевићу и проф. др Славену Продановићу, који су својим критикама донели побољшање квалитета публикације.

У Новом Саду, децембра 2019.

САДРЖАЈ

1. ГЕНЕТИЧКИ ОСНОВИ И СИСТЕМИ ОПЛОДЊЕ	1
1. 1. Нуклеинске киселине и хромозоми	1
1. 2. Ген-појам и улога	3
1. 3. Извори генетичке варијабилности	4
1.4. Грађа цвета	5
1.5. Начини опрашивања у природи	5
1.6. Инкомпатибилност	6
2. ТЕХНИКА ИЗВОЂЕЊА ЕКСПЕРИМЕНАТА	9
2. 1. Појам и постављање огледа	9
2. 2. Блок метод постављања огледа	12
2. 3. Метод латинског квадрата	13
2.4. Сплит блок метод	14
2.5. Сплит плот метод	14
2.6. Алфа латис метод	15
3. ОСНОВНА СТАТИСТИКА ЗА ОБРАДУ ПОДАТАКА ИЗ ПОЉА	18
3. 1. Појам и значај биометрике	18
3. 2. Аритметичка средина и стандардна грешка аритметичке средине	19
3.3. Варијанса и стандардна девијација	20
3.4. Коефицијент варијације	20
3.5 Корелације и регресија	21
4. АНАЛИЗА ВАРИЈАНСЕ	23
4.1. Хомогеност узорака и анализа варијансе	23
4.2. Тестирање анализе варијансе	26
5. ИСПИТИВАЊЕ КОМБИНАЦИОНИХ СПОСОБНОСТИ	29
5.1. Фенотипски маркери	29
5.2. Одабир генетичког материјала	29
5.3. Опште и посебне комбинационе способности	31
5.4. Хетерозис у пракси	32
6. ХЕРИТАБИЛНОСТ	35
6.1. Фенотипска варијанса и херитабилност	35
6.2. Коефицијент путање	38
7. МЕТОДИ ОЦЕНЕ РАТАРСКИХ БИЉАКА	41
7.1. Толерантост биљака на ниске температуре	41
7.2. Толерантост биљака на сушу	44
7.3. Техника рада на хибридизацији ратарских биљака	45
7.3.1. Пшеница	45
7.3.2. Кукуруз	48

7.4. Обрачун приноса	50
8. МОЛЕКУЛАРНЕ ТЕХНИКЕ У ОПЛЕМЕЊИВАЊУ БИЉАКА	52
8.1. Појам и врсте молекуларних маркера	52
8.2. Изолација ДНК	53
8.3. <i>PCR</i> - ланчана реакција полимеразе	54
8.4. ДНК секвенцер	55
8.5. Анализа група	56
8.6. Здружена анализа	57
9. ПРИЗНАВАЊЕ НОВОСТВОРЕНИХ ЛИНИЈА	60
9.1. <i>DUS</i> тестирање	60
9.2. <i>VCU</i> тестирање	62
9.3. Сортни огледи	62
Коришћена и наведена литература	65

1. ГЕНЕТИЧКИ ОСНОВИ И СИСТЕМИ ОПЛОДЊЕ

Да ли је могуће да укрштањем биљака црвене и беле боје цвета настане нова биљка ружичасте боје цвета? Да ли ће зрно грашка да буде округло или наборано, ако су родитељске сорте набораног зрна? Како оплемењивач пшенице може да зна да ли ће сорта коју ствара да има осје на класу или ће да буде без њега? Да ли се толерантност према расама патогена наслеђује или је условљена чиниоцима спољашње средине? Од чега зависи висина приноса хибрида кукуруза? Шта је сорта, а шта хибрид?

Одговори на ова и слична питања су могућа уколико се зна шта су гени, каквих облика могу да буду, у каквим међусобним односима се налазе и како условљавају особине организама који се размножавају генеративним путем. Међутим, да би се разумео рад гена, неопходно је познавање појмова нуклеинске киселине и хромозома.

1.1. Нуклеинске киселине и хромозоми

Хромозоми су кончасте органеле једра чији број и величина је карактеристика свих врста. Они се састоје од спирализованих ланаца дезоксирибонуклеинске киселине (ДНК) и протеина типа хистони и протамини. Када је експериментално доказано да је ДНК носилац наследних информација, проучавање ове и других нуклеинских киселина је постало значајно за разумевање процеса преноса наследних информација са родитеља на потомке, односно наслеђивање.

ДНК је изграђена од два комплементарна полинуклеотидна ланца, супротног смера, који су двоструко спирално увијени око своје осе и замишљене унутрашње осе. Основна јединица грађе ДНК је нуклеотид, који се састоји од:

1. шећера пентозе у фураниодном облику (дезоксирибоза)

2. два типа азотних база:

а) пуринске: аденин и гуанин, које имају структуру двоструког прстена

б) пиримидинске: тимин и цитозин, које имају структуру једноструктог прстена

3. фосфорне киселине.

Пуринске базе ДНК, аденин и гуанин и пиримидинске-тимин и цитозин су гликозидним везама везане за шећер дезоксирибозу, а шећер естарским везама за фосфорну киселину. Базе се везују наспрамно, по принципу комплементарности, тимин са

аденином, гуанин са цитозином, водоничним везама, стварајући тако двоструке ДНК ланце. При чему се, између пара азотних база аденин-тимин, успоставља двострука водонична веза, док се базни пар гуанин-цитозин повезује троструком водоничном везом. Овај модел грађе ДНК су дефинисали Ватсон и Крик 1953. године.

С обзиром да ДНК може да репликује саму себе, да се према њеном обрасцу одвија процес преноса генетичке информације са генерације на генерацију и да су те информације у стабилном облику, али и да могу да се мењају, она је основни генетички материјал свих еукариотских организама. У складу са тим, важно је да се зна на који начин се одвијају ови процеси.

Репликација ДНК подразумева да од једног двоструког ДНК ланца настану два нова истоветна ланца ДНК. Овај ензимски регулисан процес се дешава током синтетичког периода интерфазе (дела ћелијског циклуса, који протиче између две узастопне деобе једра и цитоплазме). Репликацијом ДНК ланца се умножава генетички материјал и удвајају сестринске хроматиде (уздужне јединице) хромозома. Овај процес почиње радом ензима хеликаза, који прекида водоничне везе између комплементарно постављених азотних база двоструког ДНК ланца. Након тога, радом ензима полимераза, сваки полинуклеотидни ланац синтетише себи нови комплементаран ланац. На тај начин новонастали ланци ДНК имају по један стари ланац (матичне ДНК) и један новосинтетисани комплементарни ланац. Из тог разлога, овај начин репликације (саморепродукције) ДНК се назива семиконзервативни.

Осим ДНК, нуклеинске киселине су и оне у чију грађу уместо пентозног шећера дезоксирибоза, улази рибоза у фураноидном облику, па се називају рибонуклеинске киселине. Осим ове разлике у поређењу са ДНК, рибонуклеинске киселине (РНК) су углавном једноструки ланци, док је азотна, пиримидинска, база тимин, замењена азотном базом урацил. Ових нуклеинских киселина има неколико врста, од којих су за разумевање процеса рада гена, најважније:

1. хетерогена РНК-настаје по обрасцу ДНК, налази се у једру и служи као прекурсор за синтезу информационе РНК,
2. информациона РНК-настаје транскрипцијом, тј. преписивањем сегмента ДНК, са ког носи информацију до рибозома, органела у којима се одвија процес синтезе протеина,
3. рибозомална РНК-спаја већу и мању подјединицу рибозома у комплекс за синтезу протеина и
4. транспортна РНК-приводи аминокиселине из периферних делова цитоплазме до рибозома, те на тај начин учествује у процесу translације (повезивање аминокиселина у полипептидни ланац).

1.2. Ген-појам и улога

Ген је функционална јединица наследности особина и у хемијском смислу представља одређен редослед нуклеотида молекула ДНК или РНК (код неких вируса). Величина гена се изражава у броју нуклеотида ланца нуклеинске киселине и најчешће се креће од 500 до 1500 нуклеотида. Према улози коју обавља, ген може да буде:

1. структурни-представља део ДНК који процесима транскрипције и транслације одређује редослед аминокиселина у протеину и

2. регулаторни

- у ширем значењу: сваки ген, који регулише рад других гена

- у ужем значењу: ген, који кодује редослед аминокиселина у протеину репресору (протеин, који је одговоран за почетак процеса транскрипције).

Транскрипција и транслација су фазе синтезе протеина, у којима деловањем гена настају протеини тј. у најширем смислу особине, које се са родитеља преносе на потомство. Ови процеси укључују неколико фаза, које се одвијају следећим редоследом:

1. матични ланац ДНК синтетише и РНК (процес транскрипције)

2. информациона РНК кроз поре на једровој мембрани одлази у цитоплазму и са својим триплетима база (кодонима) се веже за мању подјединицу рибозома

3. кодони, по принципу комплементарности азотних база, позивају антикодоне (триплете база транспортне РНК), са по једном аминокиселином везаном у вршном делу триплета, у већу подјединицу рибозома

4. образовање пептидних веза између аминокиселина и стварање протеина (процес транслације).

Завршна фаза процеса синтезе протеина (транслација) је сложен процес, који се дели на четири сукцесивне фазе:

1. активација аминокиселина и њихово довођење до рибозома

2. иницијација тј. стварање дипептида (две аминокиселине повезане пептидном везом)

3. елонгација тј. раст полипептидног ланца и

4. терминација тј. крај процеса повезивања аминокиселина и ослобађање направљеног протеина.

Описани процеси представљају само суштину рада гена код виших организама и значајно су сложенији него што су овде приказани. Између описаних, одвијају се софистикованији процеси под контролом великог броја ензима и других протеина, те се детаљније проучавају у Генетици и Молекуларној биологији под термином „Генски регулаторни механизми“.

За разумевање процеса у оплемењивању биљака, је важно да се зна да гени имају различите облике, који се називају алели и да од начина на који испољавају свој ефекат могу да буду доминантни или рецесивни тј. да имају јачи, односно слабији ефекат. Осим тога, постоје особине које се наслеђују генима који имају више од два облика који заузимају исте локусе на хомологним хромозомима, па се називају мултипли алели. Некада гени могу да буду једнаке јачине и том случају се називају кодоминантни. Постоје и епистатични и хипостатични гени, минор и мајор гени, комплементарни и суплементарни гени... Као што се види из наведених примера, да би се објаснили неки од ових појмова, потребно је претходно објашњење неких других појмова и односа између гена, што је предмет проучавања различитих генетичких дисциплина.

1.3. Извори генетичке варијабилности

Током најранијих цивилизација, људи су из природе узимали биљне и животињске врсте и користили их у исхрани. Временом, бирањем најбољих индивидуа из популација и њиховим укрштањем могли су да добију нову биљку или животињу, која им је давала више него постојећа. Била је то инстинктивна селекција. Цивилизацијски напредак, праћен и развојем науке, развио је људску потребу да се од биљака и животиња узима још више и још боље. Тако се дошло до тога да је циљ научника који се баве оплемењивањем биљака у пракси да на основу теоријских знања из ове и сличних области, правилним одабиром родитељских парова створе потомство, које ће да има бољу особину или особине у односу на родитеље или друге индивидуе у својој популацији. Овај циљ, пре развоја генетике као науке, која је дала одговоре на нека питања, која до тада нису била одговорена, могао је да се оствари бирањем биљака из локалних и популација познатих дивљих сродника одговарајућих врста. Менделово откриће о односима гена и хибридизацији тј. рекомбинацијама родитеља који се разликују у једном или више парова алела, отворило је нови извор генетичке варијабилности. Осим рекомбинација родитељских гена са доминантним и рецесивним ефектом у генетичкој конституцији њихових потомака, када се гени налазе на различитим хромозомима, извор генетичке варијабилности су и укрштања родитеља за особине које се наслеђују генима на истом хромозому, посебно ако дође до реципрочне измене делова хроматида хомологих хромозома тј. *crossing over*-а. Откриће мутација, као наследних промена генома, такође је допринело добијању особина које се до тада нису испољавале у популацијама или су биле присутне у малом броју случајева. Иако су мутације значајан извор генетичке варијабилности, углавном су непредвидиве. С обзиром да су случајне тј. да могу настати спонтано у природи или индуковано када их човек индукује хемијским и физичким средствима (мутагенсима) или зрачењем, као и да

могу бити са негативним ефектом, мутације не би требало да буду главни ослонац оплемењивачу да ће помоћу њих остварити свој циљ.

1.4. Грађа цвета

Репродукција или размножавање је једини облик сталног одржавања организама и врсте у времену и простору. Постоји две основне врсте размножавања: полна и бесполна. За нормалну полну репродукцију морају да постоје мушки и женски делови цвета или цветови. Цвет је сложен орган биљке на ком су смештени репродуктивни органи. Постоје четири основна дела цвета: чашица, круница, прашници и тучак. Прва два дела цвета немају директну важност за репродукцију биљака, за разлику од прашника и тучка, који представљају мушке и женске полне органе биљке. Прашник се састоји из дршке и антере, док је тучак сачињен од плодника, врата и стигме.

Свакој оплодњи претходи опрашивање или полинација. Да би дошло до оплодње морају да буду испуњени следећи услови:

- виталност полена
- да мушки и женски полни органи припадају истој врсти.

Када поленово зрно падне на жиг тучка оно почиње да клија. Полен на основу физичко-хемијских процеса продире све дубље и формира се поленова цев. Генеративно језгро се дели на две гамете које продиру у поленову цев и улазе у ембрионалну кесу. Једна гамета се спаја са јајном ћелијом и настаје зигот, док се друга спаја са секундарним језгром из чега настаје ендосперм (складиште резервних материја).

1.5. Начини опрашивања у природи

Ефекат оплемењивања, односно селекције зависи од система оплодње, при чему разликујемо два основна система оплодње:

- самооплодњу (аутогамију)
- странооплодњу (алогоамија)

Самооплодња је такав систем код кога долази до оплодње мушких и женских полних ћелија које припадају истој биљци. Овакав систем је осигуран постојањем двополних цветова, а опрашивање се врши властитом тежином полена. Проценат странооплодње код селекционисаних биљака је увек једноцифрен број, осим уколико неке биљке немају као сортну карактеристику отворено цветање. Гајене ратарске биљне врсте које су типични самооплодњаци су: пшеница, јечам, овас, пиринач, памук, пасуљ, соја, ланик, парадајз и многе друге.

Странооплодња је опрашивање и оплодња између различитих биљака. Жиг тучка једне биљке је опрашен поленом неке друге биљке. Странооплодњаци имају различите врсте цветова, одвојене на различитим биљкама или одвојене цветове, на истој биљци. Те стога разликујемо по Боројевићу (1981):

- 1) биљке са двополним цветовима: раж, хељда, сунцокрет, лудерка
- 2) биљке са двополним цветовима код којих је могућа и самооплодња: шећерна репа, купус, дуван, кромпир
- 3) једнодоме биљке (одвојени полни органи, али на истој биљци): кукуруз, лубеница, диња, орах
- 4) дводоме биљке (спојени полни органи, али на истој биљци): хмељ, конопља, спанаћ
- 5) странооплодне биљке које се размножавају вегетативним путем: винова лоза, јагода, кромпир.

Постоји две основна начина преношења полена: абиотички и биотички. Абиотички начини полинације су: путем ветра (анемофилија), воде (хидрофилија) и путем сопствене тежине. Биотички начини полинације су путем: инсеката (ентомофилија), пужева (малакофилија), птица (орнитофилија) и шишмиша (хироптерофилија). Све наведене самооплодне биљке опрашују се путем сопствене тежине полена. Класичан пример оплодње путем ветра је кукуруз, путем инсеката сунцокрет, путем шишмиша банане и др.

1.6. Инкомпатибилност

Инкомпатибилност представља свако спречавање спајања гамета унутар репродуктивног апарата која није узрокована дефектом самих гамета. Дели се на два основна типа: самоинкомпатибилност и алоинкомпатибилност. Самоинкомпатибилност (аутоинкомпатибилност) је појава где полен није у стању да оплоди јајну ћелију исте биљке, док је алоинкомпатибилност случај где полен једне биљке није у стању да оплоди жиг тучка неке друге биљке. Друга врста инкомпатибилност је посебно важна оплемењивачима који се баве интерспецијес укрштањима. Инкомпатибилност не треба мешати са појмом стерилности, јер стерилност представља одсутност или нефункционалност полних органа, док је инкомпатибилност само немогућност оплодње из других разлога. Ти разлози су тројаки: *протоандрија*, *протогинија* и *херкогамија*.

- Протоандрија је случај када у истом цвету прашници сазревају пре тучка и не постоји биолошки начин да тучак тог цвета оплоди жиг истог цвета. Но, такви прашници могу да оплоде жиг тучка неког другог цвета, те је јасно да он није стерилан.

- Протогинија је случај када жиг тучка у једном цвету сазри пре прашника истог цвета. Исто као и код протоандрије, тада не постоји могућност оплодње унутар истог цвета, међутим, прашници неког другог цвета могу неометано да оплоде жиг тучка првог цвета.
- Херкогамија је појава механичке удаљености и раздвојености мушких полних органа од женских полних органа. У том случају међусобна оплодња такође није могућа.

Инкомпатибилност може да се класификује на различите начине у зависности од:

- времена акције гена → у зависности на стадијум развића у ком на фенотипу долази до изражавања инкомпатибилности. Може да буде у тучку и у прашницима (спорофитна и гаметофитна).
- везаности полиморфизма цветова → овај појам је везан за морфолошку грађу цвета. С обзиром да цветове можемо да поделимо на хетероморфне и хомоморфне, хетероморфне карактерише хетеростилија у види дистилије и тристилије.
- места испољавања → инкомпатибилност може да се испољава у стигми, у стилусу и у оваријуму.
- начина генетске контроле → који се деле у две групе: инкомпатибилни системи који су контролисани полиалелним серијама једног, а ређе уз помоћ два или више локуса и инкомпатибилни системи који су контролисани уз помоћ двоалелних локуса или више.

О свим наведеним начинима ће детаљније бити речи у уџбенику из оплемењивања биљака. У процесу оплемењивања биљака је некада неходно савладати инкомпатибилност. Постоји неколико начина за то: (1) полинација цвета у врло раној фази развоја (2) излагање мајчинских цветова ниским или високим температурама уз осветљавање (3) полинација пред сам крај цветања (4) употреба раније сачуваног полена (5) гајење инкомпатибилних биљака у неоптималним условима (6) примена радијације (7) употреба „ментора“, односно додавање компатибилног полена који може да индукује клијање полена (8) примена хормона и мутагена (9) коришћење електрошокова (10) фертилизација *in vitro* (11) превођење биљака у полиплоидну форму (12) промена локуса повратним укрштањима и бројна друга.

Питања за проверу знања:

- 1. Шта чини један нуклеотид?*
- 2. Шта је протоандрија?*
- 3. Објаснити самооплодњу и набројати пет самооплодних биљака.*
- 4. Шта је инкомпатибилност?*
- 5. На које начине је могуће савладати инкомпатибилност?*

2. ТЕХНИКА ИЗВОЂЕЊА ЕКСПЕРИМЕНАТА

2. 1. Појам и постављање огледа

Оглед или експеримент је научни метод који се у природним наукама користи на унапред осмишљен начин у циљу објашњења појава и проблема који се дешавају у природи. Циљ постављања огледа је извођење закључака који ће да доведу до евентуалног унапређења пољопривредне праксе. Постављајући експерименте у природи агроном сакупља већи број својих резултата истраживања и на овај начин ослобађа науку од апстракције и чини је стварном дисциплином. Пољски огледи су такви експерименти у којима се под одређеним едафским и метеоролошким факторима испитују варијанте једног или више различитих утицаја. Сваки пољски оглед представља биолошки експеримент чији резултати треба да дају одговоре на скуп питања на основу којих се доносе закључци. Уз помоћ њих се потврђују или оповргавају унапред постављене теореме о природним појавама на одређеној пољопривредној култури. За научно решавање проблема који се јављају у пољопривредној пракси је устаљено коришћење три врсте експеримената:

- лабораторијски огледи
 - огледи у судовима
 - пољски огледи
- } вегетациони огледи

Оно што је заједничко лабораторијским истраживањима и огледима у судовима је да на неки начин представљају контролисану средину где огледне биљке ипак расту под другачијим условима, него у природи. У науци најбољи резултати се добијају када комбинујемо два од три начина постављања огледа. Чест је случај када користимо оглед у судовима или пољски оглед да би се потврдили резултати добијени у лабораторији. Такође, бројна су лабораторијска истраживања која су нашла своју примену у пољопривредној пракси. Она могу да буду обављена пре пољских експеримената, у току или након завршених пољских експеримената у циљу додатних анализа. Примена пољских огледа је значајна јер представљају завршетак научних испитивања, служе у циљу потврде теза и резултати таквих огледа су меродавни за примену у пољопривредној пракси.

Свака регија на Земљи има своје специфичности и због тога за сваки пољски експеримент може да се каже да има и регионални карактер. Управо због тога је добро поставити исти оглед на што је више могуће локалитета, односно у што је више могуће агроеколошких средина. На тај начин се добија прилика да се прати понашање одређеног генотипа (сортe, линије или хибрида) у различитим условима спољашње средине. Овакав начин испитивања ће много открити о адаптабилности и стабилности генотипа и његовом прилагођавању различитим агроеколошким срединама, где ће се поред различитих метеоролошких фактора разликовати и састав земљишта, микроклимат и бројни други чиниоци о којима ће бити речи у неким од наредних поглавља у овом практикуму.

Уколико оглед постављамо на различитим локалитетима неопходно је имати и стручан кадар подобан за правовремену и тачну оцену, бележење и праћења тока развоја огледних биљака. Због тога често научни радници огледе постављају у другим институтима или органима ресорног министарства у виду ПСС (Пољопривредне стручне службе). Захтеви за реализацију доброг пољопривредног огледа су тројаки:

- добар план
- непрекорно вођен оглед
- верно статистички интерпретирани резултати

Поред важности локалитета које су истакнуте огроман значај код постављања огледа има и број понављања. Сваки оглед поставља се у више понављања и свако понављање је састављено од више варијанти. Колико год да има понављања у једном огледу резултати унутар њих ће се увек разликовати. Резултати једног пољског огледа, који је састављен из оптималног броја понављања, неће се никада поновити и то су приближне вредности које су оптерећене одређеном дозом нетачности, што се назива погрешка огледа. Управо због тога је потребно резултате огледа верно статистички обрадити. Што је већи број понављања унутар истог огледа, то ће се више смањити и статистичка грешка унутар једног огледа. Пракса је показала да је најбоље да се сваки оглед постави у бар четири или више понављања, мада то зависи од броја испитиваних варијабли као и циља истраживања.

У зависности од тога колико чиниоца желимо да обрадимо у неком експерименту разликујемо **просте** (једнофакторијалне) и **сложене** (вишефакторијалне) огледе. На пример уколико желимо само да утврдимо принос одређеног генотипа на једној парцели, такав оглед се сматра простим огледом. Док, уколико желимо да утврдимо утицај дубине основне обраде и утицај различитих количина органског ђубрива на принос одређеног генотипа, такав оглед ће се сматрати вишефакторијелним односно сложеним огледом.

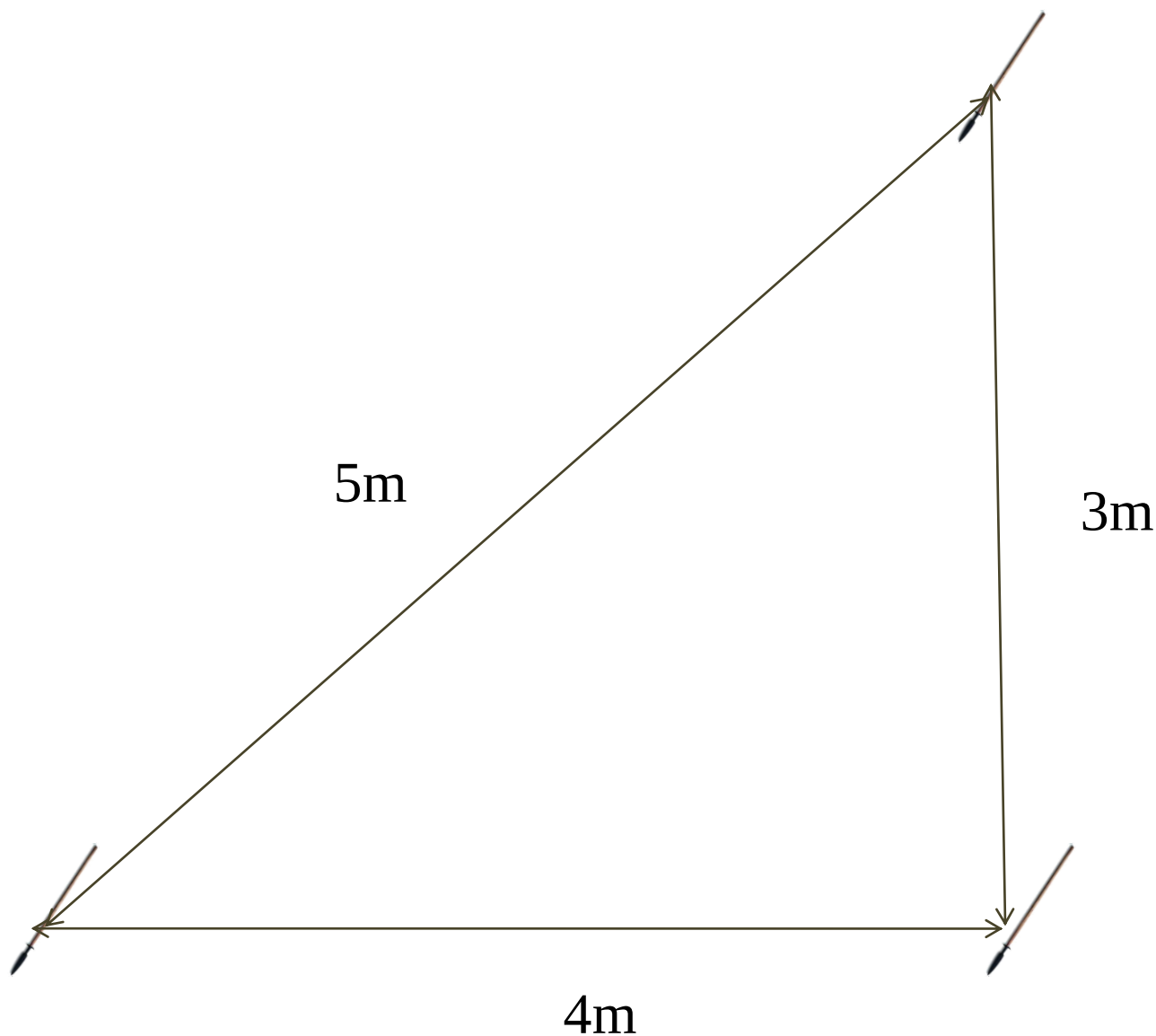
За веродостојност огледа је важно и да траје довољно дуго времена. Неписано је правило да студенти агрономије на првом и другом нивоу студија (оновне академске и дипломске-мастер студије) извлаче закључке из једногодишњих огледа, односно огледа који трају једну вегетациону сезону. Студенти на трећем нивоу студија (докторске студије) постављају трогодишње огледе или двогодишње на неколико локалитета, не би ли на тај начин добили довољан број агроколошких средина које ће им бити преко потребне за сложеније статистичке анализе. У пољопривредној науци уобичајени су такође трогодишњи огледи, који наравно имају већу тежину уколико су постављени у што већем броју понављања, односно на што више локалитета. Као одличан пример дужине трајања огледа је пример „*вечитог огледа*“ који је постављен 1965. године на Римским Шанчевима, надомак Новог Сада, од стране проф. Сарића. Оглед је и даље актуелан и постављен је у четворопољу (шећерна репа, кукуруз, сунцокрет и пшеница).

Према Убавић и Богдановић (2006) могућа је подела експеримената према величини основних огледних парцела на:

- нормалан оглед, где је величина огледне парцеле $25-100\text{m}^2$.
- микрооглед, где је величина основне парцеле $1-15\text{m}^2$
- макрооглед, где је величина основне парцеле већа од 200m^2 .

Пре почетка разјашњавања технике постављања огледа, је неопходно ваљано припремити огледну парцелу. Уколико се врши основна обрада потребно је извршити операцију истог дана на исту дубину (осим ако није реч о агротехничким огледима, па је ово фактор који се испитује). Уколико се парцела ђубри, неопходно је да ђубриво буде равномерно распоређено по целој парцели, јер оно може да буде извор варирања између понављања. И на крају, за сетву је потребно увек користити декларисано семе највише категорије до ког у том моменту може да се дође.

Да би оглед био правилно постављен је неопходно следити одређене кораке. Први корак ка постављању доброг експеримента који је унапред већ осмишљен је одабир парцеле, њено испитивање и на крају мерења огледне парцеле. Данас са упливом информационих технологија у пољопривредну науку и праксу постоје многи начини за то. Огледно поље је могуће обележити канапом или на неки други начин видљив и јасан техничарима и особљу које учествује у овој радњи. Неопходан материјал за овај корак су: пластични обележивачи, канап, пантљике, метар, граничници, свеске, оловке и др. Да би оглед био размерен потребно је одредити облик парцеле, који је како је већ наведено углавном правоуган. Основни проблем који се јавља у природи је одређивање правоугла, те стога наводимо један начин за решавање овог проблема. Наиме, неопходан материјал за обављање ове радње су три кочића, три канапа и метар. Потребно је измерити три канапа дужине три, четири и пет метара. Од канапа треба направити троугао, при чему ће се користити Питагорина теорема и уколико две краће стране поставимо као катете, када полегнемо петометарску хипотенузу, прав угао ће бити формиран (сл. 1). На овај начин спречићемо сваку могућу грешку и евентуални улазак на туђу парцелу, што на великим површинама може да се претвори у озбиљан проблем.



Слика 1. Шематски приказ одређивања правог угла на парцели

Након што је огледно поље размерено, потребно је сваку појединачну парцелу обележити. Препорука аутора је да се огледна поља увек воде под шифрама и да буду обележена комбинацијом алфанумеричких симбола. Следећи корак ће да буде постављање заштитних појасева, како би се смањио рубни ефекат. Код самооплодних биљака пракса је посејати неку комерцијалну сорту, како би изоловала сам оглед од остатка парцеле.



Слика 2. Правилно постављен и обележен пољски оглед
(Извор: Младенов, 2011.)

Након две до три недеље од постављања огледа код неких огледа треба просећи фрезом стазе између огледних парцелица, не би ли оглед попримио коначну форму (сл. 2). У току трајања пољског експеримента је препорука пратити што је више могућих особина огледних биљака у току вегетације, не би ли се правилно и са што већом прецизношћу извршила *фенотипизација*. Она представља скуп биолошких, агрономских, морфолошких, физичких и биохемијских особина једног организма (сорте, линије или хибрида) који нам ближе говоре о самој биљци, карактеристикама и њеном понашању. Изврсно би било када би сваки агроном на сваком огледу могао да прати све или већину фенотипских маркера, о којима ће бити више речи у петом поглављу овог практикума

2. 2. Блок метод постављања огледа

Један од основних начина за постављање огледа у агрономији је блок систем. Уколико је реч о једнофакторијалном (простом) огледу, онда је овај систем одличан избор. Поставља се у виду блокова или понављања и разликујемо две врсте са системским и несистемским распоредом, у зависности од тога да ли бројеви иду редом или су насумично изабрани, следећи принцип да нема понављања генотипа (броја) унутар једног понављања.

Пример 1:

Приказати шему огледа при чему желимо да испитамо 4 сорте у 5 различитих понављања.

Правилно обележавање је од велике важности, те ћемо сорте обележити арапским бројевима 1,2,3,4 и 5, док ће понављања да буду обележена римским бројевима I, II, III и IV, сл. 3.

I	1	2	3	4
II	2	3	4	1

III	3	4	1	2
IV	4	1	2	3
V	2	4	3	1

Слика 3. Блок метод са системским распоредом генотипова

Ради лакшег разумевања анализирањем табеле уочава се да није дозвољено понављање исте ознаке за генотип унутар истог понављања (у реду), али јесте понављање унутар колоне.

2. 3. Метод латинског квадрата

Метод постављања огледа по принципу латинског квадрата разликује се од претходног метода у томе што сваки члан огледа долази по једном како у блоку (реду), тако и у колони. Управо због тога у овом методу мора да буде исти број блокова колико и варијанти огледа (односно испитиваних генотипова и понављања). Пољски експерименти се постављају по овом методу када желимо да уочимо прецизне разлике и када је земљиште хетерогено.

Пример 2:

Приказати шему огледа при чему желимо да испитамо 5 сорти у 5 различитих понављања.

I	1	2	3	4	5
II	2	1	4	5	3
III	3	5	1	2	4
IV	4	3	5	1	2
V	5	4	2	3	1

Слика 4. Метод постављања огледа по систему латинског квадрата

Метод постављања огледа по систему латинског квадрата најлакше се решава уколико један генотип поставимо у дијагонални распоред и касније попуњавамо празнине, као „судоку“, сл. 4.

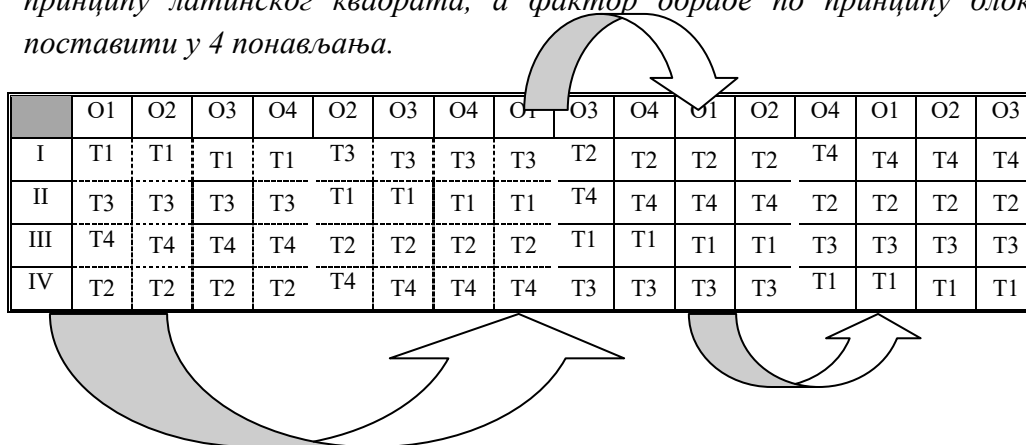
2.4. Сплит блок метод

Сплит блок метод представља један комплекснији начин постављања пољских експеримената, где долази до комбинације више испитиваних фактора и распоред варијаната је такав да су делови фактора распоређени у тракама кроз цео оглед. Уколико је могуће и при решавању задатака потребно је водити рачуна о редоследу и сложености

обављања ратарских операција, односно о манипулацији великим машинама и др. За разлику од метода сплит плот, овде се ради о истим величинама огледних парцела за оба испитивана фактора (сл. 5).

Пример 3:

Поставити оглед са 4 различите варијанте ђубрења (T1, T2, T3 и T4) и 4 различите предсетвене припреме (O1, O2, O3 и O4) код кукуруза. фактор ђубрења распоредити по принципу латинског квадрата, а фактор обраде по принципу блок система. Оглед поставити у 4 понављања.



	O1	O2	O3	O4	O2	O3	O4	O1	O3	O4	O1	O2	O4	O1	O2	O3
I	T1	T1	T1	T1	T3	T3	T3	T3	T2	T2	T2	T2	T4	T4	T4	T4
II	T3	T3	T3	T3	T1	T1	T1	T1	T4	T4	T4	T4	T2	T2	T2	T2
III	T4	T4	T4	T4	T2	T2	T2	T2	T1	T1	T1	T1	T3	T3	T3	T3
IV	T2	T2	T2	T2	T4	T4	T4	T4	T3	T3	T3	T3	T1	T1	T1	T1

Слика 5. Метод постављања огледа по систему сплит блок

2.5. Сплит плот метод

Уколико за циљ имамо да поставимо оглед где такође желимо да испитамо два различита фактора, али је деловање једног фактора израженије од деловања другог фактора користићемо овај метод ткз. метод раздљених парцелица.

Пример 4: Поставити оглед у четири различита понављања, при чему свака парцелица треба да буде у два фактора. Први испитивани фактор је наводњавање (A1 и A2 представљају наводњавану и ненаводњавану површину), док је склоп у ком ће се гајити кукуруз подфактор Б (Б1 - 30 000 биљака, Б2 - 40 000 биљака и Б3 - 50 000 биљака по хектару).

Могуће комбинације су: A1B1, A1B2, A1B3, A2B1, A2B2 и A2B3. Засенчена поља представљају наводњавану површину (сл. 6).

I	A1B1	A1B2	A1B3	A2B1	A2B2	A2B3
II	A2B2	A2B3	A2B1	A1B3	A1B2	A1B1
III	A1B3	A1B1	A1B2	A2B2	A2B1	A2B3
IV	A2B2	A2B3	A2B1	A1B1	A1B2	A1B3

Слика 6. Метод постављања огледа по систему сплит плот

2.6. Алфа латис метод

Један од често употребљаваних метода за постављање огледа у оплемењивању биљака је управо алфа латис (сл. 7). Квалитет сваког дизајна огледа мери се HMEF (*Harmony Mean Efficiency Factor*). Вредност овог коефицијента се креће 0-1 и утврђено је да од приказаних метода за постављање огледа алфа латис има највећу вредност овог коефицијента. Унутар метода је урађена додатна рандомизација јер се оглед поставља у додатне блокове, те стога представља одличан метод за агрономе и оплемењиваче.

Блок	I			II			III			IV		
1.	1	2	3	1	4	7	1	5	9	1	6	8
2.	4	5	6	2	5	8	2	6	7	2	4	9
3.	7	8	9	3	6	9	3	4	8	3	5	7

Слика 7. Метод постављања огледа по систему алфа латис

Пример 5: У прилогу је приказан и приказ праве шеме огледа на ланику, постављене 2015. године, где је у три понављања распоређено 54 генотипа, сл. 8.

	Pon 1					
Blk 1	48	39	18	17	12	8
Blk 2	49	24	5	10	40	51
Blk 3	45	16	15	4	53	52
Blk 4	50	37	27	2	25	38
Blk 5	1	36	47	20	26	22
Blk 6	13	54	30	42	34	28
Blk 7	29	3	31	9	7	23
Blk 8	44	19	14	43	33	21
Blk 9	41	11	6	32	35	46
	Pon 2					
Blk 1	33	49	52	27	3	22
Blk 2	44	51	45	36	25	6
Blk 3	43	11	34	8	29	47
Blk 4	41	2	10	48	21	16
Blk 5	30	17	23	50	46	15
Blk 6	9	14	1	4	54	40
Blk 7	26	28	19	5	39	31
Blk 8	20	35	13	37	7	18
Blk 9	32	12	24	42	38	53
	Pon 3					
Blk 1	15	10	26	7	42	33
Blk 2	27	17	36	34	41	9
Blk 3	48	44	30	1	29	24
Blk 4	16	11	19	49	20	50
Blk 5	18	3	25	32	28	4
Blk 6	54	46	5	8	52	2
Blk 7	53	51	37	23	47	14
Blk 8	38	35	43	39	40	45
Blk 9	21	22	12	31	6	13

Слика 8. Метод постављања огледа по систему алфа латис
(Аутор: др Мирослав Зорић, 2016.)

Добро осмишљен оглед, беспрекорно вођен и статистички ваљано интерпретиран представља основ за напредак пољопривредне науке и примене сличних огледа у широкој производњи.

Питања за проверу знања:

- 1. Који су захтеви за реализацију доброг пољског огледа?*
- 2. Како се деле огледи према величини огледне парцеле?*
- 3. Шта је фенотипизација?*
- 4. Поставити оглед о методу латинског квадрата, при чему је циљ постављања огледа да се испита понашање осам генотипова у осам понављања.*
- 5. Набројати начине за постављање вишефакторијалних огледа*

3. ОСНОВНА СТАТИСТИКА ЗА ОБРАДУ ПОДАТАКА ИЗ ПОЉА

3. 1. Појам и значај биометрике

У природним наукама је обрада експерименталних података од неизмерног значаја. Након што завршимо са добро осмишљеним и спроведеним огледом, неходно је извршити бројна мерења. По завршетку свих мерења приступа се обради података. Наука која се бави обрадом података и њиховом манипулацијом је статистика, а иста примењена у биолошким наукама је биометрика. Њена сврха је велика, јер другачије не бисмо могли да правилно изложимо резултате експерименталног огледа. Тек резултати који су правилно обрађени могу даље да се проследе пољопривредној пракси и да се из њих изводе закључци.

У биометрици се обично почиње од закона великих бројева, односно Гаусовог закона. Немачки научник Гаус је установио да код великог броја мерења увек дође до појаве одређене грешке и да се бројчана вредност неке особине може најбоље да одреди преко аритметичке средине. У агрономији овај закључак примењујемо да би смо након успешно обављеног огледа и његове математичке анализе, могли произвођачу да препоручимо одређену сорту, врсту агротехничке мере или нешто слично.

Употребљиви закључци у биометрици се могу добити уколико имамо довољан број узорака који произилазе из добро осмишљеног и спроведеног огледа. Важно је познавати биљну врсту са којом радимо, особину коју испитујемо и пре свега варијабилност унутар особине. Наиме, варирање унутар неке особине може да буде вишеузрочно. Варирање зависи од генетичког фактора сорте које испитујемо, од утицаја спољашње средине, од њихове међусобне интеракције и од агрономски необјашњиве погрешке (која би требала да буде у што мањој мери). Због свега наведеног је неопходно имати већи број понављања у огледу што особина више варира.

Осим вегетативних клонова, у природи не могу да се нађу две потпуно једнаке индивидуе. Међутим, уколико је генетска чистоћа велика унутар једне популације, сва варирања ће да буду смањена. Популације које имају исту биолошку конституцију могу да се пореде међу собом, међутим неосновано је поредити испољавање једне особине између биљних врста. О свему овом се у селекцији размишља пре постављања огледа и управо због тога се враћамо на чињеницу да је математичка обрада података представља секундарну манипулацију резултата из пољопривреде, која увек може да се изведе, али може да буде сврси корисна само ако су сви предуслови испуњени.

3.2. Аритметичка средина и стандардна грешка аритметичке средине

Прва и најважнија статистичка вредност која мора да се израчуна за сваку анализовану особину је апсолутна вредност, која се изражава уз помоћ средње вредности, односно аритметичке средине (просека). Иако нам је за сваки оглед неопходно и боље да имамо што више понављања и бројева унутар низа, опет тај број када приступимо обради података, мора да буде ограничен. Уколико је реч о низу бесконачних бројева, који се данас углавном решава *machine learning* моделима, у биометрици узимамо случајан узорак из неке популације и на основу предикција доносимо закључке. Средња вредност који израчунамо на тај начин не представља праву вредност већ промењиву приближну вредност, која је оптерећена извесном нетачношћу, односно објашњивом или агрономски необјашњивом погрешком. Управо зато сама аритметичка средина, као један параметар централне тенденције није довољан да нам објасни укупну фенотипску варијабилност неке особине, али нам даје појам о истој. Уз аритметичку средину, треба израчунати и погрешку аритметичке средине, као и стандардну девијацију.

Средња вредност се израчунава на два начина, из малог и из великог броја узорака, односно пондерисану аритметичку средину. Уколико је реч о малом броју варијаната формула која се користи је:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

При чему је $\bar{x}$ ознака за средњу вредност, Σ ознака за суму, x_i ознака појединачне вредности и n број варијанти.

Током израчунавања пондерисане аритметичке средине је потребно извести пондерисање (множење) сваке појединачне групе са одговарајућом фреквенцијом. Формула за израчунавање је:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i f_i}{\sum_{i=1}^n f_i}$$

При чему је f ознака за фреквенцију, док су остале ознаке идентичне као и у претходној формули.

3.3. Варијанса и стандардна девијација

Варијанса (σ^2) представља одступање обележја од просека, односно од средње вредности. Израчунава се по формули:

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n}$$

Стандардна девијација (σ) представа корен из суме квадрата удаљености појединих варијанти од средње вредности. Израчунава се по формули:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n}}$$

Параметри варијансе и стандардне варијације у оплемењивању се користе када одређујемо крајње границе до којих поједина понављања или варијанте у низу могу да одступају, односно у којој мери могу да се удаље од просека. Одређивање границе одступања се израчунава на основу вероватноће, која је унапред математички задата. При експерименталном раду, са резултатима из поља полази се од нулте хипотезе, која гласи да нема разлике између испитиваних понављања, иако знамо да то није могуће при пољским огледима. За ову тврдњу нису нам потребне студије, већ до те поставке долазимо здраворазумским агрономским размишљањем и резоновањем да две индивидуе никада нису исте и да њихов одговор на различите услове гајења, микроклимат и остале варијабле никада неће бити исти.

3.4. Коефицијент варијације

Варијанса и стандардна девијација као показатељи централне тенденције, дају нам увид у просечна одступања од средње вредности, али изражавају се у јединицама у којим је и основна вредност. Предност коефицијента варијације, из агрономског угла је што се изражава у процентима и због тога је упоредив између различитих особина. Израчунава се по формули:

$$V = \frac{\sigma}{\bar{X}}$$

Коефицијент варијације утврђује у ком степену варира анализована особина. Због чињенице да се изражава у процентима, он је релативно мерило и као што може да се закључи из формуле за израчунавање представља стандардну девијацију изражену у процентима.

3.5. Корелације и регресија

Чест случај у природи је условљеност различитих особина. Та њихова веза којом утичу једна на другу је корелација. Корелације могу да буду *позитивне* и *негативне*. Позитивна особина је случај када услед раста једне особине (x) расте и вредност друге особине (y). Код већине ратарских биљака, када расте вредност особине масе хиљаду семена расте и принос зрна. Негативна корелације је када расте вредност прве особине (x) и тај раст условљава пад вредности друге особине (y). Чест проблем оплемењивачима биљака представља негативна корелација између приноса зрна и неког од параметара квалитета. Уколико расте принос зрна, углавном ће да пада садржај протеина у зрну.

При рачунању корелације и регресије потребно је имати велик узорак, односно велик број варијанти, не би ли се са одређеном тачношћу утврдило да ли су неке особине повезане или не. Корелациони коефицијент (k) је јачина корелације између две особине и по Браваисовој теорији постоје слабе, јаке или потпуне корелације. Као и вредност сваког коефицијента креће се 0-1.

Корелација и регресија су два статистичка параметра, који су врло повезани. Регресија служи за одређивање интензитета којим једна особина реагује на промене друге особине. Према типу везе може да буде линеарна и нелинеарна, док према броју независно променљивих може да буде проста или вишеструка.

Жеља аутора је да се студенти агрономије упознају за значењем и тумачењем ова два параметра и за предмет оплемењивање биљака није потребно да се израчунава јачина корелационог коефицијента или црта график линеарне регресије, већ да помогне студенту основних студија да разуме значај ових параметара.

Питања за проверу знања:

- 1. Који су основни статистички параметри који се користе у анализи резултата огледа у оплемењивању биљака?*
- 2. Како се израчунава средња вредност обележја?*
- 3. У чему је значај познавања коефицијента варијације?*
- 4. Шта су корелација и регресија?*
- 5. Шта показује корелациони коефицијент?*

4. АНАЛИЗА ВАРИЈАНСЕ

4.1. Хомогеност узорака и анализа варијансе

Анализа варијансе (ANOVA) представља метод испитивања хомогености узорака. Основни задатак агронома који жели да испита утицај одређене сорте, ђубрива или особине је да добро осмисли и спроведе пољски или лабораторијски оглед. Уколико у огледима агроном жели да испита само један фактор од набројаних у том случају ће да се определи за оглед који је постављен у виду блокова (понављања), која ће да буду распоређена по парцели по неком систематском, унапред задатом распореду. Распоред ће да буде такав да ће свако понављање бити заступљено по једном у свакој варијанти. У поглављу другом по реду у садржају овог практикума су приказани разни модели за постављање агрономских огледа. Као што је тамо већ речено, оглед у ком испитујемо само један фактор се назива монофакторијални оглед и такви огледи су данас реткост, јер се при самом постављању огледу тежи мултидисциплинарности при састављању тимова који спровode оглед у дело. Када се поставља монофакторијални оглед тежи се већем броју понављања (5-7) и настоји се да је квадратног облика, не би ли се смањио утицај хетерогености земљишта.

Анализа варијансе служи да бисмо потврдили или оповргли почетну хипотезу, која гласи да не постоји разлика између испитиваних фактора. Тачније, у биологији не очекујемо да не постоји разлика између индивидуа, него да су одступања случајна и унутар очекиване грешке. Међутим, уколико утврдимо разлику између чланова, требало би је на неки начин „измерити“ и то ће да се уради тако што ће се утврдити статистичка значајност између тих чланова. Рецимо, потребно је да се утврди да ли постоје разлике између пет испитиваних хибрида кукуруза у приносу. Када сагледамо низове који су састављени од понављања добићемо колики је принос остварио сваки од наведених хибрида. Аритметичка средина приноса по понављањима не даје нам довољну тачност да ли се ти хибриди разликују или не, те је због тога потребно приступити овој анализи. Када се утврди да постоји разлика онда се приступа неким од *posthoc* тестова, којим утврђујемо колика је та разлика.

Оно што је од изузетног значаја за сам рад у пољу и за каснију обраду резултата је независност посматрања унутар сваког нивоа огледа. То значи да на једном нивоу фактора, који год да је, не сме да буде више резултата који потичу од исте јединице посматрања. Дакле, један број за једно понављање.

У наставку следи објашњен пример. Задатак сличан овоме, студенти могу да добију на полагању колоквијума.

Пример 1:

У производњи кукуруза су примењена четири различита нивоа агротехнике, по плану случајног блок распореда. Утврдити да ли постоји значајна разлика у приносу ($t \cdot ha^{-1}$), применом F теста.

Табела 1. Задате вредности у задатку по нивоима агротехнике и по понављањима.

Понављања/ниво агротехнике	Први ниво	Други ниво	Трећи ниво	Четврти ниво
I	5	8	5	4
II	6	5	5	5
III	8	4	6	5
IV	9	6	7	6
V	5	7	8	7

1) Први чинилац који треба да се израчуна је корективни фактор

$$C = \frac{T^2}{N}$$

$$T = \sum_i \sum_j x_{ij}$$

2) Укупна сума квадрата

$$Q = \sum_i \sum_j x_{ij}^2 - C$$

3) Сума квадрата третмана

$$Q_T = \sum_i \frac{T_i^2}{n} - \frac{T^2}{N}$$

4) Сума квадрата погрешке

$$Q_P = \sum_i \sum_j x_{ij}^2 - \sum \left[\left(\sum x_{ij} \right)^2 / n \right]$$

или

$$Q_P = Q - Q_T$$

Након тога треба да се приступи прављењу табеле анализе варијансе

Табела 2. Табела анализе варијансе за четири нивоа агротехнике и пет понављања.

Извори варијације	Степени слободe	Сума квадрата	Средина квадрата	F однос	F таблично	
					0.05	0.01
Третман	k-1=3	551.8	183.9	83.59**	2.23	3.07
Погрешка	N-k=16	35.2	2.2	-		
Укупно	N-1=19	587.0	-	-		

У прву колону се уписују степени слободe, односно број вредности у коначној рачуници који је слободан да варира. Он представља димензију домена случајног вектора, односно број слободних компонената. У примеру, k представља број нивоа агротехнике, односно број третмана. Слово N представља производ броја третмана и броја блокова из почетне табеле задатка. У другу колону се уписују суме квадрата које су израчунате у корацима 1, 2, 3 и 4. Трећа колона, односно средине квадрата попуњавамо тако што вредност друге колоне делимо са својим степеном слободe и уписујемо тај количник у табелу, с тим да тај корак није потребан за укупну средину квадрата, јер циљ огледа је поређење односа варијабилности хибрида према варијабилности погрешке. Четврта колона, F однос је однос варијанси, односно средина квадрата третмана и погрешке и то је тражена цифра. Ту тражену цифру је неопходно упоредити са табличним вредностима за праг значајности од 0.05. и 0.01. Уколико је F вредност већа од обе табличне вредности при одређеним степенима слободe, постоји велика статистичка значајност између испитиваних нивоа агротехнике и поред F односа се стављају две звезде **. Уколико се вредност F односа налази између две вредности из таблице, констатује се да постоји статистичка значајност између испитиваних нивоа агротехнике и поред F односа се убележи једна звезда *. Уколико је вредност F односа нижа од обе вредности прочитане из табеле, у табелу се уписује латинично ns што нам говори да нема статистичке значајности између испитиваних третмана. Табличне вредности се читавају из таблица F дистрибуција, при чему је r1=k-1, а r2=N-k.

4.2. Тестирање анализе варијансе

Анализа варијансе као метод представља основ за добру обраду података које обезбедимо са поља. Међутим, некада је потребно након констатовања да постоје разлике између испитиваних хибрида/сорти и сл., да знамо колике су те разлике. Таква информација ће нам касније послужити при одабиру и модификацији процеса оплемењивања или модификације начина производње. Разлике на које указује F тест се утврђују појединачним тестовима, којима поредимо средине третмана.

Примена метода анализе варијансе у истраживачком раду агронома уопштено подразумева тестирање хипотезе да је $k \geq 3$ средина основних скупова једнако. Као што смо имали прилике да видимо статистички значајан F тест подразумева одбацивање почетне хипотезе о једнакости аритметичких средина третмана. У том случају је следећи корак поређење просека, а не тотала третмана. Сви *posthoc* тестови подразумевају извођење свих могућих поређења између аритметичких средина третмана. Међутим, основно питање је како донети одлуку за који тест се одредити? Наиме, сви *posthoc* тестови и поступци могу да се односе на индивидуална поређења аритметичких средина третмана или на целе групе ових средина. Многи поступци вишеструких поређења односе се и на поређења између просека третмана уз помоћ контраста, односно унапред одређених поређења. Контраст представља поређење просека третмана који су од интереса примењујући линеарну комбинацију тотала третмана.

Један од тестова, којим може да се упореде средине третмана је t -тест. Овај тест се изводи израчунавањем вредност стандардне грешке разлике две аритметичке средине:

$$S_{(\bar{x}_i - \bar{x}_j)} = \sqrt{\frac{2 \cdot S_p^2}{n}}$$

Такође, неопходно је да израчуна број упоређења ($\frac{k(k-1)}{2}$), односно парова разлика у зависности од третмана, а затим добијене вредности t упореде са табличним вредностима t дистрибуције за степене слободе погрешке из табеле анализе варијансе, за прагове значајности 0,05 и 0,01.

Основна карактеристика овог и сличних тестова је коришћење стандардне грешке разлике између две аритметичке средине, аритметичке средине и оцењене стандардне грешке аритметичке средине, које су засноване на оцењеној варијанси погрешке из табеле анализе варијансе. У случају НЗР (*тест најмање значајне разлике*) теста, који је модификација t теста, користи се стандардна грешка разлике две аритметичке средине, која се помножи са табличним t за степене слободе $N-k$. За праг значајности од 5% и 1%, НЗР вредности се израчунавају по формулама:

$$H3P_{0,05} = t_{0,05(n-K)} \cdot S_{(\bar{x}_i - \bar{x}_j)}$$

$$H3P_{0,01} = t_{0,01(n-K)} \cdot S_{(\bar{x}_i - \bar{x}_j)}$$

Овај тест је распрострањен у пракси, међутим уколико се примени за број поређења који је већи од броја степени слободе суме квадрата из анализе варијансе, за резултат има нереално велик број статистичких поређења. Управо због те чињенице није лоша опција прибећи вишеструким интервалним тестовима, при чему аутори издвајају Данканов тест. Овај тест је врло ефикасан и често се користи. Њиме се просеци третмана рангирају према величини. Погодан је за тестирање вишеструких хипотеза.

Питања за проверу знања:

- 1. Шта је анализа варијансе?*
- 2. Како се у анализи варијансе добија укупна сума квадрата?*
- 3. Шта су степени слободе и како се израчунавају?*
- 4. На које начине се тестира анализа варијансе?*
- 5. Напишите формулу за израчунавање HSP теста и објасните шта он представља.*

5. ИСПИТИВАЊЕ КОМБИНАЦИОНИХ СПОСОБНОСТИ

5.1. Фенотипски маркери

Фенотипски маркери представљају заједнички назив за квантитативне и квалитативне особине које помажу да се лакше опише одређена сорта или хибрид. Они не обухватају само морфолошке и анатомске карактеристике биљке, већ и облик, величину семена и бројне друге особине које су дефинисане у УПОВ (*International Union for Protection of New Varieties of Plants*) дескрипторима, о чему ће да буде више речи у поглављу девет. Фенотипско маркирање представља опис генотипова по алтернативним формама особина. Као што је већ речено то нису само особине које представљају висину биљке, дужину класа/клипа и сл., већ и боју плода, толерантност на одређене болести и друго. На међународном нивоу усаглашене су особине за одређене биљне културе помоћу којих се врши опис одређеног генотипа и упис нових генотипова у базу, уколико се у довољној мери разликују од претходно признатих. Све агрономске особине могу да се поделе у две групе: квантитативне и квалитативне. Обе врсте особина су од изузетног значаја за оплемењивање, у зависности пре свега од циља оплемењивања. При чему квантитативне особине представљају углавном мерљиве особине, док су квалитативне описне особине немерљиве. Међутим, није коректно у ери дигитализације рећи да нису мерљиве, јер данас постоје бројни софтвери за мерење интензитета боје и сл. Опис генотипова по овом моделу – фенотипизацијом је најстарији метод оцено генотипова. У поглављу два речено је да је фенотипизација скуп биолошких, агрономских, морфолошких, физичких и биохемијских особина једног организма (сорта, линије или хибрида), који нам ближе говоре о самој биљци, карактеристикама и њеном понашању. Фенотипски маркери захтевају да се индивидуе гаје и прате од прве до последње фазе раста и развића и то захтева пуно времена, али и људског рада. Прве особине које се прате су број дана потребних до ницања, до момента жетве. Стога, кажемо да су фенотипски маркери распоређени дуж целог живота одређеног генотипа.

5.2. Одабир генетичког материјала

У програмима стварања нових сорти и хибрида, оплемењивачи се често срећу са проблемом одабира родитељских парова, који ће у међусобним укрштањима да дају жељени генотип. Један од најважнијих корака у оплемењивању биљака је укрштање родитеља - хибридизација већ постојећих сорти, али и увођење нове генетичке варијабилности. Успех оплемењивача зависи пре свега од доброг плана и величине почетне популације. Одабир добрих родитељских парова, добрих комбинатора, је предуслов за успешну селекцију и касније добијање нових сорти и хибрида. У том кораку

у обзир мора да се узме ефекат гена и начин наслеђивања жељене особине. Из тог разлога је од највећег значаја изузетно добро познавање генетичког материјала који поседујемо у почетним популацијама. Без тог знања, нећемо имати ни приближну представу шта можемо да добијемо у коначници. Међутим, није само познавање родитељских компоненти важно, већ и сазнања о њиховим комбинационим способностима, односно како се они испољавају у комбинацијама са неким другим генетичким материјалом. Одређивање комбинационих способности родитељских парова као улазног генетичког материјала, један је од метода уз помоћ ког можемо да сазнамо од којих комбинација укрштања можемо да очекујемо супериорније потомство у односу на родитеље. Да би оплемењивач приступио ваљано одабиру почетног генетичког материјала, најпре мора да има јасно формиран циљ оплемењивања. Уколико не одабере гене које жели да рекомбинује, не може ни да се очекује већи успех, без обзира на одабрани модел укрштања. Основни фактори који одређују начин одабира генетичког материјала су циљ оплемењивања и постојећи генетички извори. Целокупни генетички материјал који поседујемо у почетној популацији се назива гермплазма. Гермплазма одређене врсте подразумева све створене сорте/хибриде, линије, дивље и алтернативне сроднике, њихова укрштања, различите интерспецијес и интергенус хибриде и биљни материјал који је у процесу оплемењивања. Она се често сабира у генетичке колекције и чувано семе се сеје сваке две три године, да би се избегло мировање семена и улазак у фазе дормантности. У једном укрштању се користи само мали део гермплазме и тај део се назива генетички пул (*genetic pool*). Од највећег значаја је да целокупну гермплазму и генетичку колекцију одржавамо у добром здравственом стању, јер само здрав генетички материјал можемо да користимо за укрштање. Због тога наводи Боројевић (1981) да у конвенционалном оплемењивању постоје три концепта одабира родитељских парова: концепт сорте, концепт особине и концепт гена. Концепт сорте подразумева одабир великог броја сорти за укрштање под претпоставком да ће се остварити и такве комбинације позитивних особина које желимо у новој сорти. Данас се он користи само код интродукције новим биљних култура у програме оплемењивања биљака, као што је урађено скоријих година са лаником. Концепт особине подразумева одабир родитељских парова на бази познавања особина које поседују. Одабир родитеља на бази особина подразумева да се траже разлике у особинама која се жели комбиновати између различитих сорти. Концепт гена подразумева одабир полазног генетичког материјала за укрштање на бази познавања генетичке конституције особина на које се оплемењивање врши. Применом модерних алата у оплемењивању биљака и молекуларног маркирања, на светском нивоу овај концепт је у потпуности искључио претходна два. Свака светска компанија поседује лабораторије које врло брзо доводе до жељених резултата у испитивању генетичке конституције родитеља и укрштања и на тај начин знатно скраћују време производње нових сорти и хибрида. Маркерима помогнута селекција (MAS) уз помоћ техника SRS, SNP и геномском селекцијом прецизно и брзо доводе оплемењивача до сорте или хибрида какве жели да створи.

5.3. Опште и посебне комбинационе способности

Анализа комбинационих способности је биометрички метод којим се одређују родитељски парови који поседују најбоље комбинационе способности у наслеђивању различитих особина. Када је добијање супериорног попомства један од циљева оплемењивања, може да се користи анализа комбинационих способности. Овај метод помаже при избору комбинација укрштања родитељских парова који поседују пожељне особине. Укрштање таквог генетичког материјала има за циљ да услови боље испољавање жељене особине, да одреди природу и обим генетичких ефеката укључених у експресију полигена. Генетичка варијанса, која је на располагању оплемењивачу при стварању новог материјала, је према концепту комбинационих способности подељена у две различите компоненте. Те две компоненте можемо да рашчланимо на два извора варијације и то: варијанса која припада општим комбинационим способностима (ОКС) и варијанса која припада посебним комбинационим способностима (ПКС). Варијанса општих комбинационих способности води порекло од адитивног деловања гена и чини највећи део оплемењивачке варијабилности. Уколико од укупне варијансе одузмемо адитивни део, преостаје нам неадитивни део, што је директно варијанса посебних комбинационих способности. Неправедно запостављена диалелна укрштања заправо су показатељи начина деловања гена између адитивног и неадитивног ефекта гена.

Под добрим комбинационим способностима се подразумева способност једног родитеља да у комбинацији са другим родитељем да супериорно потомство. Бројни аутори тврде да решење за стварање супериорнијег потомства од почетног генетичког материјала, није одабир два одлична родитеља. Исти пример се среће и код кукуруза, који ће бити објашњен касније у овом поглављу. Не даје свако укрштање инбред линија хетерозис, већ само одабраних. Управо због тога постоје добри и лоши комбинатори и на основу познавања родитељских парова није могуће знати какви ће они бити у укрштањима, већ такве закључке можемо да доносимо само уколико смо их већ имали у ранијим програмима и укрштањима. Као што је већ речено комбинационе способности могу да буду опште комбинационе способности и посебне комбинационе способности. Опште комбинационе способности представљају просечну вредност једног родитеља на основу његовог укрштања са другим родитељима. Дакле, пре хибридизације оплемењивач није у могућности да зна каква је нека линија/сорта комбинатор, али временом након много укрштања стећи ће утисак како се тај родитељ понаша у укрштању са осталима. Посебна комбинациона способност је понашање родитеља X у укрштању са одређеним родитељем Y . Бројни оплемењивачи тврде да се најбољи посебни комбинатори добијају укрштањем једног доброг и једног лошег општег комбинатора или укрштањем оба лоша општа комбинатора. Дакле, просечна вредност линије X са линијом Y може да се израчуна на основу израза:

$$M_{xy} = OKS_x + OKS_y + PKS_{xy}$$

Од чега зависе заправо добре или лоше комбинационе способности показују нам биометрички модели. Постоји неколико модела како може да се изврши анализа комбинационих способност и диалелна анализа или укрштање је један од најзаступљенијих. Она подразумева укрштање сваке линије са сваком линијом, при чему је број укрштања тада $n(n-1)$. Овај метод је погодан за процену основних фенотипских маркера и понашању оплемењивачима важних особина и долази се до првих информација у првој генерацији. Највећи проблем при овом укрштању је заправо што већина оплемењивача ради са великом почетном основом и као што је већ истакнуто раније, успех у оплемењивању зависи од величине почетне популације. Уколико имамо само 10 линија са којим бисмо желели да почнемо, имаћемо 90 различитих комбинација, које треба посејати и о којима треба водити рачуна. Неретко оплемењивачи раде са преко 100 линија, при чему се број комбинација тада достиже 9900. Све да се сеје на минималне површине од 2-3 квадратна метра, површина је превелика које би овакав програм заузимао. С обзиром да је у пракси ово неизводиво, чешће се користи метод коришћења тестера. Он представља укрштање са добро познатим родитељем (тестером), чије су ОКС унапред познате оплемењивачу. Некада за тестер узимамо најбољи хибрид или сорту. За даљи рад долазе у обзир само линије које дају најбољи резултат у укрштању са тестером и оне се у диалелни укрштањима испитују на посебне комбинационе способности.

5.4. Хетерозис у пракси

Хетерозис представља бујност и већу родност F_1 генерације. Један од првих учених оплемењивача Колројтер, уочио је ову појаву још око 1800. године. радећи на дувану из Вирџиније и Перуа увидео је и објавио да су хибридне биљке развијеније од својих родитељских парова. Ова појава је 1912. од стране генетичара Хајса установљена под именом хетерозиготис, да би две године касније била преименована у хетерозис од стране Џонса. Хетерозис се испољава у F_1 и нестаје у следећим генерацијама. Хетерозис се не испољава само у већем порасту хибридних биљака F_1 генерације него као резултат хетерозиса биљке се одликују развојем других корисних особина (већа родност плодова и семена, већа апсолутна тежина, повећање кореновог система и др.). До испољавања хетерозиса у најјачој мери долази када укрштамо две инбред линије где је један алел фиксиран у једној линији, а други алел у другој линији. По теорији Шула, већи број квантитативних особина који утиче на развиће биљке има нормалну величину, уколико се налази у хетерозиготном стању. Чим те особине дођу у хомозиготно стање, онда је интензитет тих особина нижи. Као доказ да су квантитативне особине условљене хетерозиготношћу, Шул наводи да је исто и са хетерозисом који је најиспољенији у F_1 генерацији, када је хетерозиготност у највећем степену. Од утемељења појаве хетерозиса оплемењивачи странооплодних биљака теже да је искористе на најбољи начин. У највећој

мери хетерозис је резултат интраалелне интеракције гена (доминација и супердоминација), а у мањој мери интералелне интеракције гена (епистаза). Шулова теорија много година касније је потврђена, када је званична дефиниција хетерозиса постала да он представља стање максималне хетерозиготности до ког се долази укрштањем генетски различитих самооплодних хомозиготних линија – инбред линија. Стварање инбред линија ће бити детаљно објашњено у уџбенику из оплемењивања биљака, но као подсетник за студенте ратарско-повртарског смера треба да стоји да је за почетни материјал за стварање инбред линија важно имати што већу варијабилност. Инбред линије код странооплодних биљака се стварају процесом самооплодње кроз 6+ генерација.

Хетерозис у пракси је највише искоришћен начин стварања нових хибрида код кукуруза. Утемељење ове теорије и начина стварања нових генотипова довело је до тога да човечанство пређе са гајења сорти кукуруза на хибриде кукуруза. Иако су данас у светским компанијама (*Pioneer*, *KWS*, *Monsanto*...) више него присутне нове технике конвенционалног оплемењивања, али и трансгене технологије, хетерозис никада није и неће изаћи из употребе. У повећању приноса зрна донео је скок од 30% у поређењу са ранијим сортама кукуруза. За производњу хибридног семена кукуруза потребно је одржавати инбред линије за које се у претходним испитивањима видело да у укрштањима дају хетерозис. Укратко, код кукуруза хибридно семе се производи тако што одвојено сејемо линије мајке и линије оца у задатом односу. На линији мајке се одстране метлице чим почну да се појављују, обавезно пре цветања. На тај начин на свилу линије мајке може да падне само полен од линије оца. Зрно које се развије на клиповима линије мајке је зрно хибридне F_1 генерације. То хибридно семе са клипова мајке следеће године даје хетеротичне биљке F_1 генерације, а цео поступак представља поступак стварања једноструких хибрида. Употреба хетерозиса је такође велика код сирка и ражи. Код неких укрштања пшенице запажена је појава хетерозиса такође, али раније није коришћена због отежаних услова код производње F_1 семена услед двополне природе цвета. Зато се хетерозис код пшенице добија само уз помоћ уношења мушке стерилности. Данас се то ради хемијским путем и у коначници се добија хибридна пшеница, чије семе је знатно скупље од семена сорти. Иако даје нешто виши принос оваква производња није заживела у потпуности, због своје економске оправданости.

Питања за проверу знања:

- 1. Шта су фенотипски маркери?*
- 2. Како се дефинишу и деле комбинационе способности?*
- 3. На који начин може да се изврши анализа комбинационих способности?*
- 4. Шта је хетерозис?*
- 5. Како се добија хибридно семе кукуруза?*

6. ХЕРИТАБИЛНОСТ

6.1. Фенотипска варијанса и херитабилност

Највећи део квантитативних особина је условљен великим бројем гена на различитим локусима. Након мапирања генома пшенице утврђено је да она поседује укупно око 96 000 гена. То је огроман број утицаја са којим оплемењивач мора да се носи при постављању циља оплемењивања. Није лако утврдити који је број локуса као и колики је број алела укључен у одређивање одређене особине, мада је последњих година тај пут олакшан утврђивањем QTL-ова (*Quantitative Trait Locus*) који су установљена места задужена за испољавање агрономске особине. Фенотипска варијанса је један од најважнијих чинилаца хетерозиса. Она се не преноси у потпуности у следеће генерације и састоји се од генотипске вредности и утицаја спољашње средине. У којој мери ће у будућој индивидуи да буду повезани генотип и фенотип је кључ у оплемењивању. У овом делу, под појмом фенотипске варијабилности биће подразумевана вредност анализиране квантитативне особине (нпр. дужина класа пшенице изражена у cm). Фенотипска вредност (F) особине је резултат заједничког утицаја генетичке конституције (G) индивидуе и фактора спољне средине (E), па у складу са тим може да се наведе да је:

$$F=G+E$$

С обзиром на то да се квантитативне особине описују уз помоћ статистичких параметара из групе мере централне тенденције (просечна вредност) и мере варијације (статистичка грешка просека, стандардна варијација, варијанса (σ^2) и коефицијент варијације), наведени израз прецизније може да се објасни једначином:

$$\sigma_F^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2$$

што значи да су варијације фенотипа индивидуа у генерацији цепања особина и највеће генетичке варијабилности (F_2) резултат варијација унутар генетичке конституције (σ_G^2) и девијација изазваних деловањем променљивих услова спољне средине (σ_E^2). Анализа резултата дужине класа пшенице у једном огледу показује и разлике у одговору генотипова на услове спољне средине и супротно, па укупна фенотипска варијабилност може да се употпуни и компонентом σ_{GE}^2 , која представља варијансу интеракције генотип $\times$ спољна средина. На тај начин, добија се израз:

$$\sigma_F^2 = \sigma_G^2 + \sigma_E^2 + \sigma_{GE}^2$$

Приказане компоненте фенотипске варијабилности једним именом могу да се назову агрономски објашњивим компонентама, јер свака од њих може да се квантификује и објасни различитим статистички поступцима, па се на тај начин добија јасан приказ и

увид у то која од ових компоненти је статистички најзначајнији извор варијабилности у огледу који се изводи. На основу тога, се доноси веродостојан закључак и оцена о испитиваним генотиповима.

Међутим, извођење огледа у агрономским истраживањима, посебно у пољу, представља сложен посао, који је условљен великим бројем чинилаца, међу којима је и радна снага, па се врло често дешавају пропусти и грешке, које мењају коначан резултат, али немају агрономско објашњење. Овај део варијације обједињен је у статистичкој грешци тј. σ^2_{error} . Тако се добија потпунија једначина о варијабилности квантитативне особине:

$$\sigma^2_F = \sigma^2_G + \sigma^2_E + \sigma^2_{GE} + \sigma^2_{\text{error}}$$

Различити утицаји минор гена на експресију фенотипске вредности и међусобна дејства ових гена упућују на значај рашчлањивања генотипске варијансе (σ^2_G) на:

σ^2_A адидитивну варијансу, која представља варијацију изазвану адитивним (заједничким) дејством свих минор гена;

σ^2_D доминантну варијансу, која представља варијације услед унутаралелних (интраалелних) интеракција минор гена (оних који се налазе везани за исти хромозом) и

σ^2_I варијансу интеракције, која подразумева неалелне (интералелне) интеракције минор гена (оних који се налазе на различитим хромозомима), тако се добија израз:

$$\sigma^2_G = \sigma^2_A + \sigma^2_D + \sigma^2_I$$

односно, коначна једначина са компонентама фенотипске варијабилности:

$$\sigma^2_F = \sigma^2_A + \sigma^2_D + \sigma^2_I + \sigma^2_E + \sigma^2_{GE} + \sigma^2_{\text{error}}$$

У циљу прецизнијег квантификовања компоненти фенотипске варијабилности у обрачун се узимају и варијабилности у генерацијама раздвајања (F_2 , B_1 и B_2), где F_2 представља другу филијалну генерацију која је генерација највеће генетичке варијабилности, а B_1 и B_2 генерације потомака добијених повратним укрштањем хибрида F_1 са првим односно другим родитељем. На тај начин се добија:

$$1) \sigma^2_{F_2} = \frac{1}{2}A + \frac{1}{4}D + E,$$

$$+ \left\{ \begin{array}{l} \sigma^2_{B_1} = \frac{1}{4}A + \frac{1}{4}D + E, \\ \sigma^2_{B_2} = \frac{1}{4}A + \frac{1}{4}D + E, \end{array} \right.$$

$$2) \sigma^2_{B1+B2} = \frac{1}{2}A + \frac{1}{2}D + 2E$$

Узимајући у обзир да су генетичке конституције родитеља хомозиготи и да је F_1 генерација униформна, а да варијабилност ових генотипова искључиво зависи од варијација чинилаца спољне средине, важи да је:

$$\sigma^2_{P1} = \sigma^2_E; \sigma^2_{P2} = \sigma^2_E \text{ и } \sigma^2_{F1} = \sigma^2_E, \text{ израчунава се}$$

$$\sigma^2_E = \frac{\sigma^2_{P1} + \sigma^2_{P2} + \sigma^2_{F1}}{3},$$

односно компонента E , која је једнака вредност израчунате еколошке варијансе.

Решавањем система две једначине са две непознате (једначине 1 и 2), добијају се вредности компоненти A (адитивна варијанса) и D (варијанса изазвана интраалелним инетракцијама минор гена), односно квантификују се вредности компоненти фенотипске варијабилности F_2 генерације:

$$\sigma^2_A = \frac{1}{2}A$$

$$\sigma^2_D = \frac{1}{4}D$$

$$\sigma^2_E = E$$

Овај модел не узима у обзир и трећу компоненту генотипске варијансе (σ^2_I), која је углавном значајно мања од варијанси A и D , али постоје и сложенији модели који квантификују и овај извор варијабилности.

Познавање компоненти фенотипске варијабилности доприноси разумевању појма херитабилност, који се објашњава као мера или коефицијент наследности и у најширем смислу може да покаже у којој мери потомство личи на своје родитеље, а у којој мери анализована особина зависи од дејства чинилаца спољне средине. Анализом квалитативних особина (боја, облик и сл.) које су условљене радом јаких, мајор гена и које су мање зависне од фактора спољне средине, вредност овог параметра је виша у односу на квантитативне (метричке) особине (дужина класа пшенице, број зрна у клипу кукуруза и сл.). Ова група особина се испољава захваљујући раду минор гена, који имају слаб појединачан ефекат, те да би испољили своје дејство мора да их буде више, па се из тог разлога још називају и полигени.

Херитабилност се обележава симболом h^2 или H и може да има вредност од 0 до 1, односно од 0 до 100%. Овај показатељ наследности се изражава у ширем или у ужем

смислу, у зависности који део генотипске варијабилности се сагледава у односу на укупну варијабилност F_2 генерације.

Херитабилност у ширем смислу представља удео генотипске варијансе у укупној фенотипској варијабилности F_2 генерације и израчунава се по обрасцу:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_{F_2}^2}$$

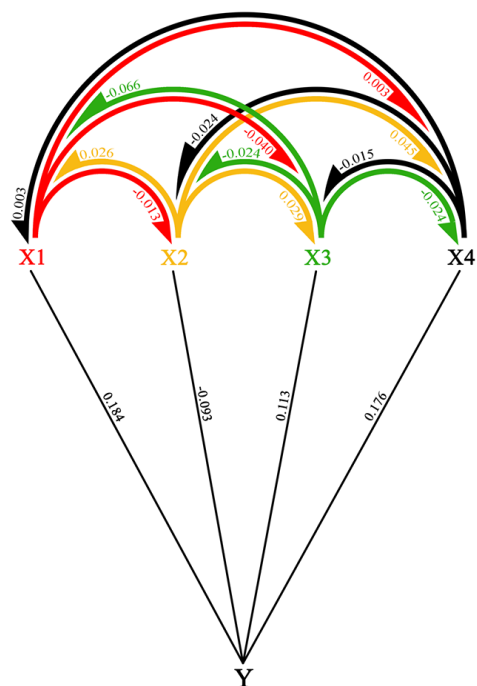
Херитабилност у ужем смислу представља удео адитивне варијансе, која има највећи утицај на варијацију генотипа, у укупној фенотипској варијабилности F_2 генерације и израчунава се по обрасцу:

$$h^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_{F_2}^2}$$

Израчунавање овог коефицијента, олакшава процену о наслеђивању особине, односно доприноси испуњењу оплемењивачког циља.

6.2. Коефицијент путање

Коефицијент путање (*Path coefficient*) или индиректне корелације, ПАТ коефицијент се користи да би се установиле узрочно последичне везе између испитиваних особина и зависно променљиве (Y) која најчешће представља *супер* особину, која је најчешће принос биљке. Коефицијент путање даје детаљнију слику о односу између испитиваних променљивих у односу на просте корелације. Индиректне корелације не приказују само међусобне односе између независно и зависно променљивих, већ и међусобне односе између независно променљивих у њиховом заједничком утицају на зависно променљиву, односно индиректан утицај испитиваних особина на особину која је издвојена као Y . То омогућава да се издвоје оне фенотипске особине које у највећој мери утичу на формирање приноса. На тај начин се боље уочава њихова међусобна повезаност и утврђује јачина утицаја појединих компоненти приноса на крајњу резултанту. На графику је приказан пример коефицијента путање и везе између особина које условљавају принос зрна пшенице (сл. 9).



Слика 9. PATH биplot индиректних корелација за 2012. годину за испитиване агрономске особине 94 генотипа пшенице (*Triticum vulgare* L.) и по један генотип *T. spelta* L. (Нирвана) и *T. compactum* Host (Бамби).
Y-принос, X₁-висина биљке, X₂-дужина класа, X₃-број зрна по класу, X₄-маса хиљаду семена

Питања за проверу знања:

- 1. Шта је то фенотипска вредност?*
- 2. Који део укупне фенотипске варијабилности нема агрономско објашњење?*
- 3. Шта је то херитабилност?*
- 4. Којим генима је условљена већина квалитативних особина?*
- 5. Шта приказује коефицијент путање?*

7. МЕТОДИ ОЦЕНЕ РАТАРСКИХ БИЉАКА

7.1. Толерантност биљака на ниске температуре

Толерантност биљака на ниске температуре се испитује код озимих усева, јер у нашим, континенталним условима најниже температуре наступају у периоду од децембра до марта. Отпорност биљака на ниске температуре може да се испитује у (1) пољским условима (2) лабораторијским условима (3) комбинованим; односно пољско-лабораторијским условима.

Толерантност биљака на ниске температуре у пољским условима

Испитивање отпорности биљака на ниске температуре у пољским условима врши се на четири различита начина:

- окуларни метод
- метод бројања измрзлих биљака
- метод испитивања у условима без снежног покривача
- Ауфхамеров метод

Први метод је окуларни и он је најједноставнији утврђени метод. Лако се изводи, не захтева додатну опрему, али захтева стручност оцењивача. Оцењивање степена измрзлости биљака се обавља одмах по изласку из зимског периода, утврђивањем броја измрзлих биљака и процента измрзлих листова. Приликом оцене мора да се обрати посебна пажња на стварну природу настанка штете на биљкама и листовима. Треба разликовати штету насталу од напада патогена и инсеката од штете које су проузроковале ниске температуре. У току оцене треба пажљиво испитати свако понављање унутар сваког генотипа и на крају израчунати средњу вредност. Окуларни метод подразумева рангирање штете на пет различитих степени: 0 када нема измрзлих листова; 1 када је 20% од укупне лисне масе измрзло; 2 када је 40% од укупне лисне масе измрзло; 3 када је 60% од укупне лисне масе измрзло; 4 када је 80% од укупне лисне масе измрзло и 5 када је 100% од укупне лисне масе измрзло. На исти начин и по истој скали се врши и оцена процента измрзлих биљака. Проценат оштећених листова и биљака исказује се одвојено за сваки генотип и упоређује се са најраспрострањенијом сортом за тај регион.

Други метод је метод бројања измрзлих биљака. Овај метод даје сигурније податке од првог метода. По овом методу се биљке најпре пребројавају у јесен, дакле пред улазак у зиму, али и по изласку из зимског периода. Од велике је важности да се бројање врши на истим деловима парцеле. Односно, пребројавање биљака треба да се изврши унутар сваког понављања за одређени генотип. Уколико је парцелица дужине 2 метра, првих пола метра се остави као рубни ефекат и онда се постави метарски штап. Дуж штапа се преброји број

биљака у јесен и исти поступак се понови и након зиме, у првим недељама пољских радова. Разлика између броја биљака које су ушле у зиму и биљака које су успешно савладале утицај ниских температура, се исказује у процентима и представља број измрзлих биљака. Уколико се испитивање врши у научне сврхе, могуће је поређење са другим сортама, углавном генотиповима који су најраспрострањенији у том региону.

Трећи метод је метод у условима без снежног покривача. У претходна два метода, број измрзлих биљака је одређен без икаквог ремећења нормалног живота биљака. Снежни покривач, који се током зиме, углавном формира на пољима, у великој мери штити усеве од измрзавања, јер се испод њега ствара микроклимат и он олакшава биљкама да поднесу ниске температуре. За овај метод је потребно поседовати дрвене рамове, који служе као поклопци и наносе се на одређена понављања када снег почне да пада или када се очекује. Површина ових огледних парцела је 1m^2 , како би се олакшала употреба дрвених поклопаца. Највећи проблем су падавине током ноћи, те је овај метод врло захтеван. Услови без снега су знатно суровији и са великом сигурношћу се добијају резултати да ли је нека линија отпорна на ниске температуре или не. Исто као и у претходном методу, биљке се пребројавају у реду пре уласка у зиму и након изласка из зимског периода. Овај метод је први пут употребљен 1961., када га је разрадио, утемељио и користио др Тодор Мишић.

Четврти метод је Ауфхамеров. Овај метод се изводи у отвореном пољу и захтева поседовање сандука величине $70 \times 60 \times 20\text{cm}$ за ускоредне усеве. Дрвени сандуци се пуне мешавином земље и песка. У сваки сандук се сеје генотип који желимо да испитамо у више понављања, уколико је могуће. Сандуци се стављају на ногаре, висине 1m . Издигнутост изнад земље осигурава најсуровије услове за биљку, јер је струјање ваздуха на тој висини веће него на земљи. Сандуци су заштићени крововима и током трајања снежних падавина се покривају, не би ли се додатно заштитили од снега. На тај начин држимо усеве без снега током целе зиме и излажемо штетним утицајима мраза. Ови услови су неупоредиво гори него услови у нормалним усевима и стога биљке које презиме представљају отпорне генотипове на ниске температуре и голомразице. У оваквој врсти огледа се пребројавају све биљке у реду у јесен и у пролеће и коначан резултат изражава се у процентима презимелих биљака.

Толерантност биљака на ниске температуре у пољско-лабораторијским условима

Постоји велик број врло сличних метода који се користе у пољско-лабораторијским условима. Аутори су се определили да опишу само неке од њих:

- метод монолита и модификовани метод Гаснера
- метод Јурјева

Први метод подразумева доста рада, јер је неопходно физички вадити делове земље (монолите) из огледног поља са биљкама које се касније излажу лабораторијским условима. Вађење монолита се ради 4 пута у току вегетације и у сваком вађењу треба да буде 15-20 биљака. Након вађења монолити се уносе у хладњаче и излажу ниским температурама. Температура зависи од биљне врсте и њихове критичне тачке за измрзавање, но након одређеног времена на температурама испод нуле монолити се преносе у просторије на собну температуру. Пет дана касније броје се измрзле биљке и изражавају у процентима. Модификовани метод Гаснера је модификовани метод монолита. Разлика је у томе што се не вади тако велика површина земље, него биљке са мрвицама земље. Те биљке се најпре држе на 1-2°C, не би ли се раскалиле и онда се поново закале на температури до -5°C. Пет дана касније се излажу критичним тачкама. На крају се броје измрзле биљке и изражавају у процентима.

Метод Јурјева је други метод којим може да се испита отпорност биљака у пољско-лабораторијским условима и у примени је широм Русије у оплемењивачким центрима. Сортни материјал се сеје истовремено у пољу и у саксије. У сандуке се посеје око 150 биљака ускоредног усева. По обављеној сетви, семе се покрива слојем земље и залива се сваког дана. До зимског периода усеви се закале и развију се. У том моменту степен развоја усева на парцели и у сандуцима је на сличном нивоу. Пред улазак у зимски период се стаје са заливањем и сандуци се уносе у покривене просторије. У тим просторијама се обезбеђује јака и стална промаја и усев се излаже условима без снежног покривача. У овим сандуцима долази до пропадања усева, јер су услови знатно суровији него у пољу. Измрзле биљке изражавају се у процентима у односу на укупан број биљака.

Толерантност биљака на ниске температуре у лабораторијским условима

Метод испитивања отпорност биљака на ниске температуре у лабораторијским условима подразумева сетву биљака у сандуке напуњене мешавином земље и песка у лабораторији. Сандуци се углавном држе у стакларама, где има довољно светла, а при томе се настоји да се одржава ниска температура у пољу у току јесени. Три недеље након ницања, сандуци се излажу температури од 2°C у трајању од седам дана, а затим се преносе у просторије где је температура -5°C где бораве најмање пет дана. Затим се оглед излаже температури од око -10°C на пет дана и најзад се излажу критичној температури за биљну врсту. За пшеницу то је до -22°C у трајању од 24h до 48h. По истеку овог периода биљке се држе пет дана на температури од 0°C и након тога се преносе у добро осветљену просторију на 10°C. После извесног времена се приступа оцени отпорности биљака на ниске температуре. Утврђује се проценат измрзлих биљака, као и оштећења лисне површине.

Данас су у употреби све мање стакларе, а све више фитотрони. Фитотрони су затворене истраживачке собе, где је могуће пратити понашање биљака, њихову међусобну интеракцију и њихов одговор на све промене вештачких услова у виду влаге, температуре, осветљености и сл. На слици 10. је приказан пример изгледа такве собе.



Слика 10. Фитотрон

На основу бокора и ширине листа код биљке пшенице је могуће донети прелиминарне закључке о отпорности неке линије или сорте на ниске температуре. Генотипови са полеглим бокором и ужим листовима имају редовно бољу отпорност на ниске температуре. Тај однос представља правилност која се често јавља, а тиме и корелацију између поменутих параметара.

7.2. Толерантост биљака на сушу

Толерантност биљака на атмосферску и земљишну сушу се испитује у (1) пољским условима и (2) лабораторијским условима.

Испитивање толерантности биљака на земљишну сушу у пољским условима врши се у неконтролисаним условима и методом сувог поља. Први метод се спроводи у регионима са мање падавина. Србија спада у земље семиаридног поднебља и количина падавина се смањује идући од запада ка истоку, те је најбоље одабрати огледне парцеле у близини Вршца, који годинама уназад има најмању количину падавина. Када се поставља оглед са намером испитивања толерантности на сушу свака промена на усевима се прати и бележи, укључујући ту већење, жутење и опадање листова...На овој врсти огледа се практикује одређивање прираста суве материје у временским интервалима од десетак дана. Овај метод даје добре резултате само у изразито сушним годинама и због тога је несигуран. Други метод, метод сувог поља захтева правилну парцелу, обично правоугаоног облика којој је онемогућен приступ атмосферским падавинама. Око ње се ископа канал дубине 70cm и ширине 30cm, како би се смањио доток воде са стране. Изнад сувог поља се налази конструкција преко које се навлачи церада када пада киша, а у неким деловима света се поставља и непокретни стаклени кров. У току трајања кише, церада се

спушта скроз до земље, не би ли се смањило и доток влаге са стране. Током вегетације се прате све фенофазе, као и промене које се јављају услед недостатка падавина.

Испитивање толерантности биљака на атмосферску сушу у лабораторијским условима врши се у фитотронима или у стакленим коморама. Ваздух се најпре хлади да би се ослободио водене паре и након тога се загрева, при чему релативна влажност ваздуха расте до нивоа карактеристичног за регион. Биљке се излажу овом методу када су најосетљивије, рецимо у фази класања. Оне се наизменично постављају испред топлих и хладних струјања ваздуха и тестирају се у неколико фенофаза. Крајњи принос из комора и фитотрона се пореди са паралелено постављеним пољским микроогледом и доносе се закључци.

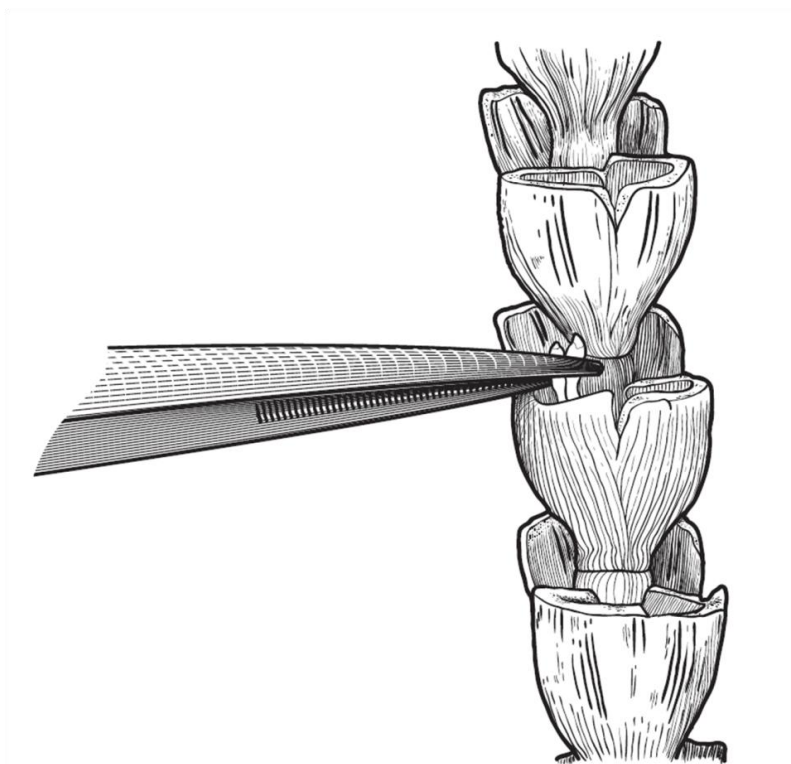
7.3. Техника рада на хибридизацији ратарских биљака

Опемењивач мора добро да познаје биљну врсту и генетички материјал на ком ради, пре него што почне са вештачким укрштањем. Врло брзо ће увидети да ли је укрштање успело, јер се у наредној генерацији испољавају особине одабраних родитеља. За технику укрштања је важно познавати грађу и особине цвета, као и њихове специфичности, као и потенцијалне сортне/хибридне карактеристике и специфичности. Такође, треба да зна начин на који се оплоди биљка и где су позиционирани полни органи, о чему је већ било речи у првом поглављу. Лан је као биљна врста дуго био сматран самооплодном биљком, да би се касније установило да постоји скоро 40% варијетета који су странооплодњаци. Такође, пшеница је самооплодна биљка, али постоји проценат око 4% где су биљке изложене странооплодњи. Ово све зависи и од сортне карактеристике, јер постоје сорте које отвореније цветају, те је странооплодна лакша. Но, ово су разлози због чега опемењивач мора да познаје генетички материјал којим жели да манипулише. Задатак вештачке контроле укрштања је стварање нових генотипова који ће имати пожељне родитељске особине. Вештачко укрштање обухвата: кастрирање, изолацију, скупљање полена и опрашивање. При извођењу укрштања опемењивач мора да поседује материјал и алатке неопходне за рад. Ту спадају: маказице, пинцете, игле, скалпел, четкицу, суд за воду, лупе, водене шприцаљке, медицински алкохол, етикете, столице и омањи сто, конац, вату, платнене кесице, оловке и др. У зависности од биљне врсте се разликује и техника укрштања, а самим тим и неопходна опрема.

7.3.1. Пшеница

Код пшенице се најпре изврши одабир најбољих биљака на сорти која је планирана да буде мајка, при чему се води рачуна да 1/3 класа није изашла из лисног рукавца. Маказицама се одстрани вршни део класа (3-4 класића), као и 1-2 класића на доњем делу

класа. Затим се пинцетом са сваког преосталог класића, са средњег дела класа уклањају сви централни цветови, а остављају се бочни цветови. На тај начин на класу остане 20-50 цветова, односно потенцијалних зрна. Са тих цветова се маказицама одсецају плева и плевица. Тада може да се приступи кастрирању цветова. Цветови се кастрирају на тај начин што се пинцетом са горње стране (где су одсечени плева и плевица) улази у цвет и уклањају се све три антере прашника (сл. 11). Пинцета не сме да буде исувише оштра, да не повреди двоперни жиг тучка. Прашници треба да буду зелене боје у моменту уклањања. Уколико су већ пожутели тај клас треба да се одстрани из даљег рада. Када се изваде прашници из једног цвета, врх пинцете се потапа у медицински алкохол да би се уништио евентуално преостали полен претходног цвета и тек онда се кастрира наредни цвет.

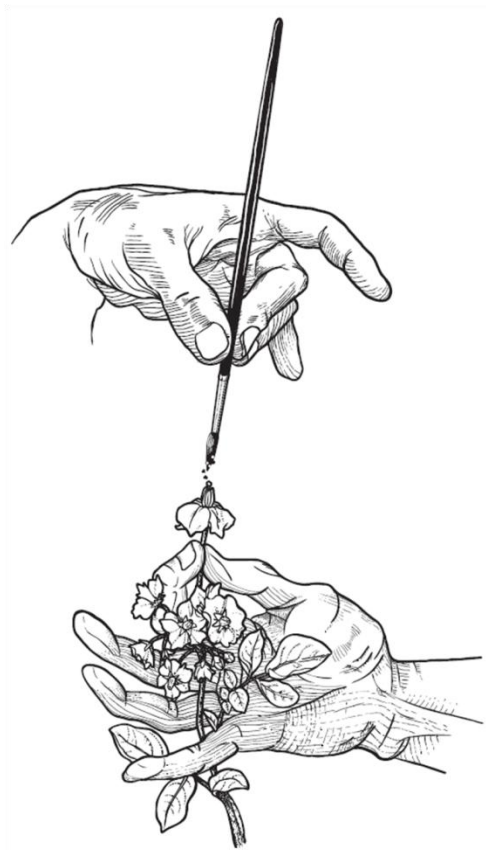


Слика 11. Кастрација прашника пшенице
(Илустрација: Зоран Свилар)

Одстрањивањем прашника из свих цветова је обављено кастрирање класа. Биљка са кастрираним цветовима се користи као мајчинска биљка. На тако кастриран клас се навлачи папирна кеса, која служи као изолатор и на клас се постави етикета на којој се обележи ознака мајке, датум кастрације и име особе која је извршила кастрирање. Пар дана након ове операције, пера тучка се разгранају и он је спреман за оплодњу. Чим тучак сазри приступа се опрашивању наношењем полена пореклом од друге сорте која је у улози оца. Постоји неколико начина како се врши самоопрашивање.

Први начин се раније доста користио, али је сада много мање у употреби код пшенице. Но, код бројних других ратарских и повртарских врста се полинација врши и

даље на овај начин. Полен и зрели прашници мушке биљке се сакупљају у петри кутију. У поступку опрашивања се скида кеса која је изолатор мајчинског класа и помоћу fine четкице која се утопи у сакупљен полен се прелази преко класа (цветова) и жига тучка (сл. 12, пример како се наноси полен четкицом на биљку кромпира).



Слика 12. Наношење полена фином четкицом на жиг тучка кромпира
(Илустрација: Зоран Свилар)

Други начин је да се неколико (3-5) класова са поленом од очинске биљке стави под заједнички изолатор кастрираног класа, која је материнска биљка. То се постиже што се класови оца који су у целости изашли из лисног рукавца одсецају заједно са стабљиком на 10-15 cm изнад земље. Уз биљку мајке се забоду један колац који је по висини виши од биљке мајке и у његовој близини се постави посуда са водом (сл. 13). У посуду са водом се стављају биљке оца и на тај начин оне дуже живе и праше. Након тога се стабло са класом мајке заједно са стаблима и класовима оца благо учврсте за колац и покрију заједничким изолатором.



Слика 13. Метод заједничког изолатора
(Извор: Н. Младенов, 1992.)

Овај метод се највише користи код ражи, али је у употреби и код пшенице. Предности овог начина су што је оплодна класа мајке велика и мали је проценат странооплодње, а недостатак је што је технички захтевна.

Трећи начин је када се узимају цели класови са набубрелим, али још увек неотвореним прашницима. Клас се поставља пре опрашивања у топао песак или се греје у руци, не би ли антере више изашле чиме би се олакшало опрашивање. Папирна кеса се сече са горње стране, клас мушке биљке се ставља у кесу и благо протресе и проврти, чиме се изазива пуцање прашника. Након тога кеса се поново затвара са горње стране. Након опрашивања поново се ставља изолатор или се кеса затвара и бележи се на етикету име линије или сорте оца, датум опрашивања и име лица које је извршило опрашивање. Изолатор остаје да стоји на класу до пуне зрелости. Обе операције, кастрација и опрашивање се врше када у пољу нема ветра, због поменутог процента странооплодње. Пшеница цвета најинтензивније у раним јутарњим часовима и цео посао треба обавити у што је могуће више контролисаним условима и што брже, јер је цвет отворен и лако долази до странооплодње.

7.3.2. Кукуруз

Кукуруз је странооплодна биљка, чија оплодна се обавља захваљујући ветру. Он је једнодома биљка и на истој биљци се налазе и мушки и женски полни органи. Свака биљка производи много већу количину полена него што је потребно за оплодњу. Метлица која представља мушку цваст се појављује скоро недељу дана раније од свиле, која представља женску цваст. Биљке кукуруза које су предвиђене да буду мајка, кастрирају се одсецањем

(чупањем) метлице. Затим се са клипа одсеца врх лисног омотача, пре појаве свиле и на њега се ставља изолатор у виду папирне, а некада и пластичне кесе.



Слика 14. Изолација клипа кукуруза
(Извор:<https://farmwest.com/node/31>)

Након неколико дана, кад жигови тучка испод кесе израсту пар центиметара треба да се приступи опрашивању. Тада се подсецају жигови до висине од 1cm изнад клипа, да би се сви цветови оплодили. Опрашивање се изводи у јутарњим или вечерњим часовима, јер тада има најмање полена у ваздуху. Врши се тако што се најпре протресе отац, да би се распукло што више прашника и да би се накупило што више полена. Затим се скида кеса са клипа и жигови тучка се опрашују великом количином полена навлачењем кесе са метлице (сл. 14). Изолатор може да остане на клипу до зрења.

Два приказана модела, за пшеницу и кукуруз, су основни модели како се врши вештачко укрштање у пољу и на који начин долази до појаве комбинације различитих генотипова. Оплемењивање биљака је много напредовало у последњих 50 година и бројни оплемењивачки центри су створили модификације ових метода. У првом поглављу, где су описани системи оплодње су објашњени начини на које биљка може да се оплоди спонтаним путем у природи. Многи од тих начина су и најбољи за оплодњу, те се и у вештачкој оплодњи они користе. На пример, код уљане репице и сунцокрета, пчелама итд.

7.4. Обрачун приноса

Често оплемењивач нема могућност да све своје парцелице пожање комбајном, помоћу кога је најлакше измерити принос (Π). Захваљујући прерачунавању уз помоћ мерених компоненти приноса могуће је извршити обрачун приноса. Постоје разни методи, који се разликују од биљне врсте до биљне врсте, но ево неких од њих.

1) $\Pi (1\text{m}^2) = \text{број зрна по класу} \times \text{маса } 1000 \text{ семена} \times \text{број класова по } 1\text{m}^2$

2) $\Pi (1\text{m}^2) = \text{маса зрна по класу} \times \text{број класова по } 1\text{m}^2$

3) $\Pi (1\text{m}^2) = \text{укупна тежина снопа} \times K$

Уколико је узорак, односно сноп биљака узет са површине од 50cm^2 , даље израчунавање иде $50 \times 50 \text{ cm} \Rightarrow 0,25 \text{ m}^2 \Rightarrow K=1/0,25 \Rightarrow K=4$.

Питања за проверу знања:

- 1. На које начине може да се испита отпорност биљака на ниске температуре?*
- 2. Објасните метод испитивања отпорност биљака на ниске температуре у лабораторијским условима.*
- 3. Како се испитује толерантност биљака на сушу?*
- 4. На примеру пшенице и кукуруза, објасните метод вештачког укрштања (опрашивања) у пољу.*
- 5. На које начине може да се израчуна принос семена, уколико се огледне парцеле не комбајнирају?*

8. МОЛЕКУЛАРНЕ ТЕХНИКЕ У ОПЛЕМЕЊИВАЊУ БИЉАКА

Данас се правци оплемењивања биљака мењају у односу на прошли век. Пре педесетак година главни циљ оплемењивања је био већи принос хибрида и сорти, док се данас све већа пажња оплемењивачих програма посвећује повећању отпорности на болести и адаптивности особина које могу да буду од значаја у условима глобалне промене климе. Управо у одређивању локуса на којима су смештени гени који условљавају бројне особине, између осталог и отпорности на одређене болести лежи применљивост и значај могуће примене молекуларних маркера, као и маркерима потпомогнуте селекције (*Marker Assisted Selection*). Она је заснована на потврђеној вези између маркера и гена од интереса и има за циљ да повећа ефикасност у укрштањима при стварању нових сорти.

8.1. Појам и врсте молекуларних маркера

Поред већ објашњених, у петом поглављу, фенотипских (морфолошких) маркера у оплемењивању биљака у све већој примени су и молекуларни маркери. Молекуларни маркери могу да буду цитолошки, биохемијски и генетички. Сви молекуларни маркери су секвенце гена и могу да буду објашњене кроз полиморфизам између различитих индивидуа или секвенци. Термин полиморфизам представља могућност неке појаве да се јавља у различитим облицима. Но, у оплемењивању један ген је полиморфан уколико се више алела налази на једном локусу хомологних хромозома. Полиморфизам је изазван инсерцијом, делецијом, мутацијом или транслокацијом, али ефекат гена не мора да буде промењен. Молекуларни маркери су подељени у три групе у зависности од тога на ком механизму почивају. Те стога постоје маркери засновани на:

- акцији гена
- методу детекције (*PCR*)
- начину наслеђивања

Молекуларни маркери помоћу којих могу да се уоче разлике на нивоу протеина називају се биохемијски маркери. ДНК маркери указују на разлике на нивоу ДНК и неки од коришћених маркера у пољопривреди су: маркери засновани на полиморфизму дужине рестрикционих фрагмената (*Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP*), маркери засновани на варијабилности у броју тандемских поновака (*Variable Number Tandem Repeat - VNTR*), маркери засновани на насумично амплификованој полиморфној ДНК (*Random Amplification of Polymorphic DNAs, RAPDs*), микросателити (*Simple Sequence Repeats, SSR*), маркери засновани на полиморфизму у једном нуклеотиду (*Single Nucleotide Polymorphism, SNP*), митохондријални микросателити, хлоропластни микросателити (*cpSSR*), ретротранспозони, секвенчно одређени региони амплификације (*SCAR*) и бројни други.

Микросателити (*Simple Sequence Repeats, SSR*) су кратки тандемски поновци ДНК секвенце величине 1-6 базних парова. Налазе се у кодујућим и некодујућим регионима ДНК и распоређени су у геному. Такође су заступљени и унутар хлоропластне и митохондријалне ДНК. Понављајућа шема је најчешће врло једноставна и састоји се од две, три или четири базе, које се узастопно понављају велики број пута. Код пшенице најзаступљенији поновак је АТ, док је код житарица генерално то ССГ. Код већине врста су најзаступљенији микросателити са динуклеотидним поновцима, док се са повећањем дужине понављајућег мотива у оквиру микросателита смањује његова заступљеност у геному. Оно што микросателите издваја у односу на неке друге класе молекуларних маркера, јесте њихова висока варијабилност, мултиалелна природа, кодоминантни начин наслеђивања, репродуктивност, релативна разноврсност, широка распрострањеност у геному (укључујући и геноме других органела, а не само једра), специфична локација на хромозому, могућност за аутоматизацију и високо продуктивну генотипизацију. Од почетка 80-их година, од када су почеле прве анализе микросателитима, па све до данас, микросателити су нашли велику примену у различитим генетичким истраживањима. Висок степен варијабилности је омогућио да постану врло добри маркери за процену генетичког диверзитета. Управо зато су спроведена бројна истраживања, где су микросателити коришћени за карактеризацију гермплазме различитог географског порекла. Друга врло важна примена јесте код заштите ауторских права оплемењивача, путем ДНК фингерпринтинга, методом одређивања јединствених ДНК секвенци. Метод фингерпринтинга је техника одређивања генетичког идентитета и заснован је на полиморфизму на молекуларном нивоу. Микросателитски маркери се користе за детекцију великог броја локуса за квантитативне особине (*Quantitative Trait Loci - QTL*). Ови локуси су одговорни за наслеђивање и фенотипску експресију многих важних особина у агрономској производњи и од огромног су значаја у оплемењивању биљака.

8.2. Изолација ДНК

Изолација ДНК је први корак који мора да се уради, уколико желимо да се бавимо молекуларним оплемењивањем. Постоје бројни начини и методи како ДНК може да се изолује. Већина лабораторија ради изолацију из зеленог ткива, но неке врше изолацију из семена. У наставку ће бити описана изолација ДНК по СТАВ протоколу према Doyle and Doyle (1990). Од сваког испитиваног генотипа се наклија по десет зрна у петри посудама. Након клијања се створи смеша из које се издвоји неколико милиграма свежег ткива, потребних за изолацију ДНК. Мацерација младог ткива се обавља у аванима, уз присуство течног азота, а затим се мацерат преноси у кивете запремине 1,5 ml. Након тога, у кивете са узорцима се дода по 500 µl СТАВ (цетилтриметиламонијум бромид) изолационог пуфера. Тако припремљени узорци се стављају у водено купатило на 65 °C у трајању од 30

минута, уз повремено мешање. Након завршеног периода инкубације, у сваки од узорака се дода по 500 μ l смеше хлороформ/изоамил алкохола, у односу 24:1, како би се створила емулзија. Узорци се центрифугују 10 минута на 12000 обртаја. Тако створени супернатант преноси се у нове кивете, запремине 1,5 ml и у њих се дода по 350 μ l расхлађеног изопропанола. Раствор се меша, уз издвајање нити ДНК. Након тога узорци се центрифугују 5 минута на 10000 обртаја. По одливању супернатаната, ДНК остаје на дну, док се у кивете додаје по 200 μ l пуфера за испирање и узорци се центрифугују током 3 минута на 10000 обртаја. Следећи корак је стављање узорака у термоблок на сушење, 40 минута на 35 °C. По завршетку сушења, узорци се враћају у стање суспензије у 50 μ l 0,1xTE [Трис(хидроксиметил)аминометан + етилен диамин тетра сирћетна киселина (Tris+EDTA)] пуфера и одлажу да стоје један дан на температури од 4 °C, да би се растворила ДНК.

8.3. PCR - ланчана реакција полимеразе

Ланчана реакција полимеразе подразумева умножавање и стварање великог броја идентичних копија сегмента ДНК, често уз помоћ флуоресцентно обележене почетне прајмер секвенце и крајње секвенце. Почетни и крајњи прајмер чине молекуларни маркер који обележава део ДНК који треба да се умножи ланчаном реакцијом полимеразе. На тај начин се добије довољна количина ДНК која је потребна за каснију анализу. Посматрање тако умножене ДНК се често врши електрофорезом. Ланчану реакцију полимеразе треба разликовати од клонирања, јер није заснована на употреби живих ћелија једног организма, већ на реакцији ДНК уз помоћ ензима *TAQ* полимеразе. Након изолације ДНК у ланчану реакцију полимеразе је потребно унети још и лиофилизовану секвенцу ДНК, односно прајмер. Прајмери постоје готови које бројне компаније на тржишту продају или могу да се специјално направе по упутствима оплемењивача. Ланчана реакција полимеразе одвија се у *PCR* апаратима (сл.15). Ови апарати су дизајнирани за рад са микротитар плочама.



Слика 15. *PCR* апарат; *Veriti Thermal Cycler*.
(Извор: Младенов, 2016.)

Реакциона смеша је састављена од геномске ДНК, која је служила као матрица сваког нуклеозид трифосфата (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), затим 0,5 μM сваког од флуоресцентних левих и десних прајмера, као и једну јединицу *Taq* полимеразе (термостабилне ДНК полимеразе). Тако се добија укупна запремину од 10 μl . Ланчана реакција полимеразе може да се одвија на много начина, али сви програми су засновани на промени температуре у цикличном ритму. Основна комбинација типова реакција су: (1) денатурација ДНК на високим температурама око 95 $^{\circ}\text{C}$ – где долази до прекидања водоничних веза између два ланца ДНК и формирања једноланчаних ДНК молекула (2) хибридизација прајмера при сниженој температури од око 50 $^{\circ}\text{C}$, јер тада долази до обнављања водоничних веза и (3) елонгација, односно спаривање ланца ДНК уз помоћ *Taq* полимеразе, при температури од око 72 $^{\circ}\text{C}$. Новостворени ланци ДНК у једном циклусу ланчане реакције полимеразе служе као калупи за даље стварање ДНК.

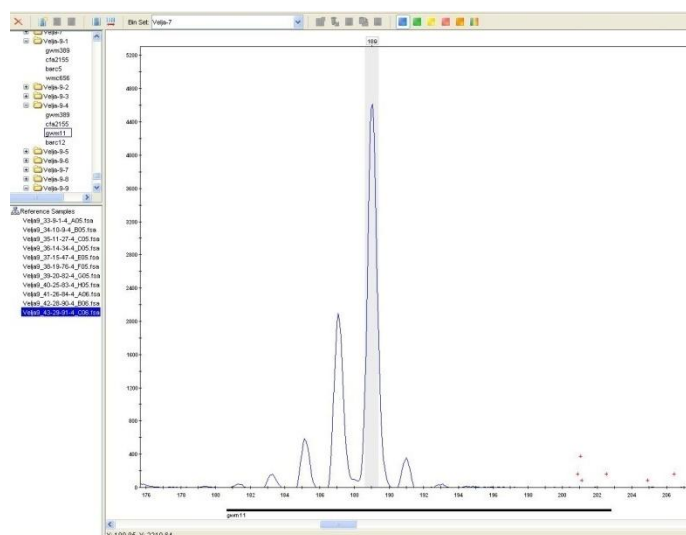
8.4. ДНК секвенцер

Анализа *PCR* продуката, добијена умножавањем микросателитских локуса или неким другим молекуларним маркерима може да се уради помоћу ласерског ДНК секвенцера.



Слика 16: ДНК секвенцер; *ABI Genetic Analyzer 3130*
(Извор: Младенов, 2016.)

Секвенцер представља систем са четири капиларе, при чему су најчешће коришћене оне дужине 36 cm, специјално дизајниране за генотипизацију микросателита (сл. 16). Секвенцер омогућава поређење микросателитског фрагмента са прецизношћу од једног базног пара. Принцип рада апарата је заснован на методу електрофорезе и примени флуоресцентно обележених прајмера. Под утицајем наизменичне струје на путу од катодe до аноде, флуоресцентно обележени прајмери пролазе кроз ласерски зрак апарата, који бележи емитовано флуоресцентно зрачење, преводeћи га у електрофореграм, са кога могу да се читају величина производа и интензитет флуоресценције (сл. 17).



Слика 17. Електрофореграм микросателитског маркера *gwm11*
(Извор: Младенов, 2015.)

За раздвајање *PCR* продуката се користи полимер *POP4* (*Polydimethyl acrylamide* – 4% полидиметил акриламид, 8 М уреа, 5% 2-пиролидинон). Прајмер секвенце за *SSR* маркере су обележени са 4 боје: 6 *FAM* – плава боја, *NED* – жута боја, *PET* – црвена боја и *VIC* – зелена боја. На тај начин је омогућено да се продукти четири различита микросателитска локуса анализирају истовремено, јер се боје не преклапају. Пре анализе, на микротитарске плоче се унесе по 2 μ l *PCR* продуката, односно 0.5 μ l од све четири боје. Затим су, на свако од 96 места на плочи, додата и 0.2 μ l стандарда за величину и 7.8 μ l *Hi-Di Formamide*, те је запремина сваког места на плочи 10 μ l реакционе смеше. Након тога, узорци се денатуришу и поставе на секвенцер.

8.5. Анализа група

За све испитиване особине у фенотипском делу огледа је добро користити метод груписања на основу кластер анализе, односно анализе група. За сваку особину понаособ се уради кластер анализа, при чему се генотипови групишу у различите кластере. Кластер анализа или разврставање, представља непараметријски модел одређивања природне груписаности у различите кластере (групе), при чему се води рачуна да су разлике између генотипова унутар једне групе статистички незначајне. Ради утврђивања природне сличности генотипова, се користи најпре хијерархијски тип груписања (*Joining-tree clustering*), на основу ког се добија представа о могућем броју кластера. Овим методом се врши хијерархијско повезивање група, при чему су групе представљене графиком – дендрограмом. Помоћу дендрограма се долази до могућег броја група (кластера), полазећи од једноелементних кластера, који се спајају у веће групе, све док се цело хијерархијско стабло не сабере у један кластер. Након добијене слике о могућем броју кластера, приступа се другом кораку и детаљнијој анализи груписања, *K-means* методу, сада на основу унапред задатог броја група и рађене значајности унутар сваке групе анализом варијансе. Оба метода користе мере различитости између фенотипских података, при формирању група (кластера).

8.6. Здружена анализа

Након обављене молекуларне и фенотипске процене треба да се одабере статистички тест који ће добро да уклопи резултате генотипизације и фенотипизације. У циљу смањења ризика од настанка лажно позитивних веза маркер - особина, је развијено неколико метода за утврђивање структуре популације. Анализа је подељена у пет корака, при чему је: први- одабир популације која ће се анализирати, други- утврђивање нивоа и утицаја популационе структуре на испитивани узорак, трећи- фенотипска процена популације, четврти- молекуларна процена за кандидат гене или скенирање генома и пети - тестирање везе између фенотипа и генотипа. Популација која се користи у здруженим анализама би требала да представља што дивергентнији узорак, а величина варира, од 26-

961 генотипа. Devlin and Roeder (1999) развили су метод „геномске контроле“, где се структура популације утврђује на основу великог броја неутралних маркера или маркера који нису у вези са особиним од интереса за одређено истраживање. SA (*structure associations*) анализа, развијена од стране Pritchard *et al.*, (2000) базира се на примени сета неvezаних молекуларних маркера за процену популационе структуре (*Q matrix*), која се затим убацује у општи линеарни модел (*GLM – general linear model*), чиме је омогућена корекција лажних веза. Касније су Yu *et al.*, (2006) развили нов метод, мешовити линеарни модел (*MLM – mixed linear model*), који поред популационе структуре, у себи садржи и сродничку повезаност индивидуа популације (*kinship matrix – K matrix*), чиме се одбацује такође значајан број лажно позитивних веза. Оба линеарна модела је потребно користити не би ли се број лажних веза смањио на минимум. Један од најчешће коришћених рачунарских софтвера за здружену анализу је TASSEL (Bradbury *et al.*, 2007). У оквиру овог програма могуће је утврдити *K* матрицу, а затим извести обе линеарне анализе за смањење лажних веза маркер – особина.

Основни циљ, у биљној генетици, је дефинисање дела фенотипске варијабилности који настаје као последица промене на нивоу ДНК секвенци. Здружена анализа (асоцијативно мапирање и анализа) има могућност да идентификује разлике на нивоу гена које доводе до промене фенотипа. Наведена анализа подразумева трагање за везом између генотипа и фенотипа, међу генотиповима који нису у сродству, ослањајући се на бројне рекомбинације из претходних генерација. Уколико постоји одступање у појављивању од очекиваног код два различита алела, пореклом из различитих локуса на истом хромозому, сматра се да су у гаметској неравнотежи (*linkage disequilibrium*).

Само маркери који су блиско везани за неку особину, а показују одсуство гаметске неравнотеже, испољиће јасну везу маркер-особина, која ће моћи да се препозна здруженом анализом.

Питања за проверу знања:

- 1. Шта су молекуларни маркери?*
- 2. Шта су то микросателити?*
- 3. Из чега може да се изолује ДНК?*
- 4. Шта представља ланчана реакција полимеразе?*
- 5. Како се назива график којим се приказују резултати анализе група?*

9. ПРИЗНАВАЊЕ НОВОСТВОРЕНИХ ЛИНИЈА

Након постављања оплемењивачког циља, одабира родитеља, укрштања и постизања хомозиготности након скоро 10 година, оплемењивач улази у завршну фазу стварање сорте/хибрида. Материјал који је створен гаји се на малим површинама и оплемењивач располаже са врло мало семена. Међутим, пре пуштања у производњу неопходно је да се одређен генотип призна у надлежном министарству републике Србије. У оквиру министарства пољопривреде, постоји посебан одсек за признавање сорти који је задужен за спровођење одредаба закона о признавању сорти пољопривредног биља. Семе и садни материјал могу да се стављају у промет само уколико је сорта уписана у регистар сорти пољопривредног биља. Да би домаћа и страна сорта биле уписане у регистар морају да прођу процедуру испитивања одређених особина од агрономског значаја и да се утврди да је: (1) различита, униформна и стабилна (2) има бољу производну и употребну вредност (3) да је име сорте у складу са прописаних захтевима. Поступак признавања сорте подноси власник сорте, односно његов правни заступник. Он прилаже захтев за признавање сорте и попуњава технички упитник. У обавези је да достави количину семена коју Министарство захтева. Испитивање сорти ратарских усева на огледном пољу траје две године и Министарство има посебно оформљене комисије за већину ратарских усева, састављене од реномираних стручњака из тог поља коју врше оцену параметара и доносе коначну одлуку да ли се линија признаје као сорта или се одбацује. Уколико линија испуни захтеве комисије за признавање сорти иде у даљу процедуру. Министарство издаје решење о признавању сорти и сорта се уписује у регистар пољопривредног биља републике Србије. Након признавања сорте и уписа у регистар неопходно је приступити семенарству и умножавању сорте. Институција може сама да ствара ниже категорије семена или то може да врши кроз посреднике. На територији наше земље постоје организације које олакшавају посао у сектору семенарства и уједињују компаније овог сектора. Најутицајнија организација у овом сектору је Семенарска асоцијација Србије, која је чланица Европске Семенарске асоцијације (*European Seed*, некадашња ESA).

9.1. DUS тестирање

Када оплемењивач направи нову линију од изузетне је важности да се она разликује од пређашње признатих сорти. Стога се приступа поређењу са до тада признатим сортама и доказивању да је она различита, униформна и стабилна. Тест се назива *DUS (Distinctness, Uniformity, Stability)* при чему то представља акроним од енглеских назива за различитост, униформност и стабилност. За правилно извођење овог теста је неопходно:

- поседовати технички водич за гајење биљака. У том водичу је описана комплетна фенотипизација (о чему је било речи у другом поглављу практикума), која обухвата праћење морфолошких особина (боје и облика), физиолошких и биохемијских карактеристика (јединственост сорте, толерантности и отпорности)
- направити колекције до тада признатих сорти, доспелих линија и сорти стандард које служе за поређење, као и базе података
- сакупити податке о новим сортама у земљи ради заштите интелектуалне својине. Ова врста тестова се не врши само у сврху признавања сорти, већ и поменуте заштите интелектуалне својине.

DUS тестови подразумевају тестирање линија у пољу и у лабораторији. За тестирање се користе *UPOV* (*International Union for the Protection of New Varieties of Plants*) дескриптори врста. Агрономски огледи у пољу трају две године и постављају се на више локација у зависности од усева. Најчешће се огледи спроводе широм земље у: Сомбору, Панчеву, Земуну, Сремској Митровици, Кикинди, Врбасу, Пожаревцу, Крушевцу, Трстенику, Гучи...У овим дескрипторима врста је описано мноштво особина. Неке су описане бојом, неке положајем листова, неке одсуством или присуством одређеног дела биљке (сл. 18).

TG/3/12
Wheat/Blé/Weizen/Trigo, 2017-04-05
9

7. Table of Characteristics/Tableau des caractères/Merkmalstabelle/Tabla de caracteres

	English	français	deutsch	español	Example Varieties Exemples Beispielssorten Variedades ejemplo	Note/ Nota
1.	PQ VGJA	(+)	00			
	Seed: color	Semence : couleur	Korn: Farbe	Semilla: color		
	white	blanche	weiß	blanca	(w) SY Ideo, (s) Blini	1
	reddish	rougeâtre	rötlich	rojiza	(w) Soleho, (s) Granary	2
	purple	violette	purpur	púrpura	(w) Indigo	3
	bluish	bleuâtre	bläulich	azulada	(w) Skorpion	4
2.	QN VGJA	(+)	00			
	Seed: coloration with phenol	Semence : coloration au phénol	Korn: Phenolfärbung	Semilla: coloración al fenol		
	absent or very light	nulle ou très faible	fehlend oder sehr hell	nula o muy clara	(w) Bitop	1
	light	faible	hell	clara	(w) SY Ideo, (s) Lavett	3
	medium	moyenne	mittel	media	(w) SY Moisson, (s) Sensas	5
	dark	foncée	dunkel	oscura	(w) Antonius, (s) Granary	7
	very dark	très foncée	sehr dunkel	muy oscura	(w) Calobre, (s) Lennox	9

Слика 18. Пример оригиналног УПОВ дескриптора за пшеницу. Особине су описане на 4 светска језика (Извор: <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg003.pdf>)

У великој мери дескриптори се разликују по пољопривредним усевима. *DUS* тестирање не обухвата само пољске огледи и фенотипизацију, већ и ланчану реакцију полимераза, објашњену у претходном поглављу. Уз помоћ ње и низа молекуларних техника могуће је да се утврди да ли нека сорта садржи отпорност на одређени патоген и

сл. У данашње време генотипови се некада разликују само у тој врсти особина, па је неопходно извршити и лабораторијско тестирање.

9.2. VCU тестирање

У овом поступку испитивања пријављених генотипова циљ тестирања је да се испита прилагођеност агроеколошким условима. То обухвата тестирање на више различитих локалитета, које одликују различити типови земљишта и што је могуће другачији временски услови. У коначници треба да се добију сорте који имају бољу агрономску вредност од постојећих сорти. Оплећењивач током стварања сорте води рачуна и о овим особинама генотипа, због тога је његов посао тежак. Није у питању само висина приноса, већ и адаптираност поједином региону у земљи, где је ранокасност или каснокасност потребна. Развијеност кореновог система, хемијски састав, параметри технолошког квалитета, само су неке од особина неопходне у оцени пољопривредне вредности. Но, пољопривредна вредност сорте зависи од: способности генотипа да остварује висок принос, способности да добро реагује на унапређене мере неге, да даје принос задовољавајућег квалитета, да је толерантна на болести и штеточине, да је погодна на механизовану обраду и жетву итд.

9.3. Сортни огледи

Извођење сортних огледа за министарство пољопривреде није лак задатак и захтева стручан кадар. Врло често спроводе се у Пољопривредним стручним службама (ПСС), које имају запослене агрономе свих усмерења. Они заједничим деловањем спроводе и контролишу огледе и достављају резултате истих комисији за признавање сорти. Њихов задатак је да изврше процену вредности нових линија и да их упореде са сортама стандардима. При извођењу огледа врше се посматрања и уредно бележе у току вегетације, затим се утврђује принос и врше се нека лабораторијска испитивања. Начин и дизајн огледа зависи од тога колико сорти има у укупном огледу, али се у сортним огледима углавном користи рандомизирани блок систем, детаљно објашњен у другом поглављу). Величина парцеле за пшеницу је $5-15\text{m}^2$, а за кукуруз $15-25\text{m}^2$. Ови огледи се углавном постављају у четири понављања. За сортне огледе се користе специјалне машине за сетву и жетву. Реч је о малим машинама који имају радни захват усклађен са величинама парцеле, сл. 19.



Слика 19. Сетва сортних огледа пшенице
(Фото: Младенов, 2018.)

Извођач огледа генотипове добије под шифром, коју установљава министарство. На тај начин се осигурава да је тајност на високом нивоу и да ће сваки оглед бити спроведен непристрасно. Поред приноса који се бележи, важно је водити рачуна и бележити: датуме појаве поника, датум цветања, класања, отпорности на болести, штеточине, отпорност на полегање, осипање, датум сазревања, дужину вегетације и др. Након тога се приступа лабораторијским анализама, пре свега анализи технолошког квалитета, хемијском саставу зрна, уделу протеина, масти и угљених хидрата. Маса хиљаду семена и хектолитарска маса такође представљају обавезне параметре који се достављају комисији за признавање сорти.

Питања за проверу знања:

- 1. Када семе може да се стави у промет?*
- 2. Које захтеве треба испитивана линија да испуни да би била призната у министарству и уписана у регистар сорти?*
- 3. Из којих се све разлога врши DUS тестирање?*
- 4. Од чега зависи пољопривредна вредност сорте?*
- 5. Која је сврха сортних огледа у ПСС?*

КОРИШЋЕНА И НАВЕДЕНА ЛИТЕРАТУРА

Acquaah, G. (2012): *Principles of Plant Breeding*. Willey-Blackwell, Oxford. USA.

Богдановић, М. (1989): *Оплемењивање биља са сјеменарством – Практикум*. Универзитет у Сарајеву, Пољопривредни факултет. Сарајево.

Боројевић, С. (1981): *Принципи и методи оплемењивања биљака*. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Нови Сад.

Брбаклић, Љ. (2015): *Молекуларна и асоцијативна анализа својстава класа пшенице*. Универзитет у Београду, Биолошки факултет, Београд.

Димитријевић, М., Петровић, С. (2005): *Генетика популације: Адаптабилност и стабилност генотипа*. Пољопривредни факултет, Нови Сад и Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад.

Зоњић, И. (1951): *Основе селекције биља*. Универзитет у Београду, Научна књига. Београд.

Мишић, Т. (1961): *Практикум за вежбе из оплемењивања биљака са семенарством*. Ауторизована скрипта. Универзитет у Новом Саду, Савез студената Пољопривредног факултета, Нови Сад.

Младенов, В. (2017): *Фенотипска и молекуларна анализа агрономских особина пшенице*. Докторска дисертација. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Нови Сад.

Мутавцић, Б., Николић-Ђорић, Е. (2018): *Статистика*. Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, Нови Сад.

Пржуљ, Н. (2016): *Принос стрних жита*. Монографија. Академија наука и умјетности Републике Српске, Бања Лука.

Тркуља, Д. (2015): *Асоцијативна анализа везе агрономских особина и ССР локуса пшенице*. Докторска дисертација. Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет, Земун-Београд.

Убавић, М., Богдановић, Д. (2006): *Практикум из агрохемије*. Пољопривредни факултет, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад.

Шурлан-Момировић, Г., Ракоњац, В., Продановић, С., Живановић, Т. (2005): *Практикум из генетике и оплемењивања биљака*. Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет.

БИОГРАФИЈЕ АУТОРА

Велимир Младенов је рођен 1982. године у Земуну. Основно и средње образовање је стекао у Новом Саду. Пољопривредни факултет је завршио на Универзитету у Новом Саду. Дипломирао је, мастерирао и докторирао у ужој научној области Генетика, оплемењивање биљака и семенарство. Посвећен је и предан оплемењивању биљака и њеном унапређењу кроз броје европске пројекте на пшеници, ланику и другим ратарским усевама. Унутар области ратарске производње поклања своју неподељену пажњу оплемењивању биљака, делу пољопривреде који сматра најзахтевнијим. На предмету *Оплемењивање биљака* је ангажован од 2011. године. Аутор је бројних научних и стручних радова у међународним и домаћим часописима. Члан је бројних стручних агрономских друштава, међу којима се истиче његов рад у *Семенарској асоцијацији Србије*. Члан је комисије за признавање сорти и хибрида унутар Министарства пољопривреде, шумарства и водопривреде. Ожењен је и отац једног детета.

Јан Боћански је рођен 1957. године у Селенчи. Основну школу је завршио у родном месту, гимназију у Оцацима, а Пољопривредни факултет, одсек за ратарство у Новом Саду. Магистрирао је и докторирао на Универзитету у Новом Саду, где и ради од 1983. године. Тренутно је у звању редовног професора. Обавио је бројне научне специјализације у Мексику и Америци, у најпрестижнијим оплемењивачким центрима и на најелитнијим универзитетима. Аутор је и коаутор десет хибрид кукуруза. Активни је учесник комисија за признавање сорти, комисија за израду наставних планова и акредитацију факултета у складу са Болоњском декларацијом. Бави се наставним и научним радом на свим предметима из области Оплемењивања биљака и семенарства. Говори, чита и пише енглески и руски језик. Ожењен је и има двоје деце.

Борислав Бањац је рођен 1982. у Кикинди. После завршене Гимназије „Душан Васиљев“ у Кикинди, уписао је Пољопривредни факултет Универзитета у Новом Саду, смер за ратарство и повртарство. Након тога, одбранио је мастер рад из области Генетике, оплемењивања биљака и семенарства. Из исте области је одбранио докторску дисертацију 2015. Запослен је на Пољопривредном факултету у Новом Саду од 2009. године. У звање доцента је изабран 2016. Бави се наставним и научним радом на свим предметима из области Генетике. Ожењен је и отац је једног детета. Живи у Новом Саду.

Изводи из рецензија:

проф. др Славен Продановић

Практикум је заснован на савременим научним и стручним достигнућима из области Оплећењивања биљака. Рукописом је обухваћен целокупан садржај вежби из наставног програма предмета Оплећењивање биљака који слушају студенти студијског програма Ратарство и повртарство у трећој години студија, као и предмета Оплећењивање биљака и семенарство који слушају студенти студијског програма Органска пољопривреда у другој години студија. Учешће редовног професора као аутора и његова сарадња са ауторима млађе генерације пример је педагошког приступа у изради практикума. Рукопис „Практикум из оплећењивања биљака“ је оригинално, савремено, научно и стручно дело. Написан је једноставним језиком, прихватљивим за студенте, којима ће значајно да олакша припремање колоквијума из предмета Оплећењивање биљака.

проф. др Десимир Кнежевић

Рукопис књиге са насловом „Практикум из оплећењивање биљака“, је значајан извор теоријских знања и основ за развијање вештина студената у оплећењивању биљака. Садржај практикума је усаглашен са акредитованим садржајем наставног предмета Оплећењивање биљака, написан јасно и илустративно и има комплементарну улогу уџбеничкој литератури у остваривању циља и исхода наставног предмета Оплећењивање биљака за студенте Пољопривредног факултета. Поглавља у садржају су хармонизовано распоређена и садрже савремена знања за образовање и оспособљавање студената основних студија Пољопривредног факултета. Практикум представља значајно иновирање литературе у области оплећењивања биљака и науке у грани пољопривреде и резултат је заједничког рада у науци и високошколском образовању афирмисаних наставника.

ISBN:978-86-7520-522-7